



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA E BIOQUÍMICA

VITÓRIA CORRÊA SANTOS

**EFEITOS DA *Curcuma longa* EM MODELO MURINO DE ACIDENTE
VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO**

BELÉM-PA

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA E BIOQUÍMICA

**EFEITOS DA *Curcuma longa* EM MODELO MURINO DE ACIDENTE
VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO**

Autor(a): Vitória Corrêa Santos

Orientador(a): Prof.^a Dr.^a Dielly Catrina Favacho Lopes Rêgo

Documento de Dissertação apresentada
ao Programa de Pós-graduação em
Farmacologia e Bioquímica do Instituto
de Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Pará como requisito para a
obtenção do título de Mestre em
Farmacologia e Bioquímica.

BELÉM-PA

2024

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo
com ISBD Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados
fornecidos pelo(a) autor(a)**

S237e Santos, Vitória Corrêa.
Efeitos da Curcuma longa em modelo murino de acidente
vascular cerebral isquêmico / Vitória Corrêa Santos. — 2024.
36 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Dielly Catrina Favacho Lopes Rêgo
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós- graduação em
Farmacologia e Bioquímica, Belém, 2024.

1. acidente vascular cerebral isquêmico . 2. neuroproteção. 3.
plantas medicinais. 4. Curcuma longa.
I. Título.

CDD 573.8

*À minha filha, Helena, por ser a
minha fonte inesgotável de
amor, incentivo, coragem e
força. E por me impulsionar a
sonhar e realizar coisas
inimagináveis.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, a minha fonte de sabedoria, discernimento, sustentação e amparo ao longo de toda essa jornada acadêmica.

À minha filha, Helena Corrêa Rodrigues, por ser a força motriz que me impulsiona a ir em direção aos meus sonhos e realizações.

Ao Felipe Rodrigues, pelo apoio, compreensão e incentivo incondicional para a concretização deste estudo.

Aos meus demais familiares, que direta ou indiretamente se envolveram e me cercaram com uma grande e fundamental rede de apoio e amor.

À Luiza Dias e Gabrielle Pimentel, por toda amizade, companheirismo, doação e lealdade, que funcionaram como um farol que iluminou os meus dias mais difíceis.

À minha orientadora, Dielly Catrina Favacho Lopes Rêgo, por conduzir a minha trajetória científica com paciência e incentivo, sempre extraíndo de nós o hábito da excelência.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Neuropatologia Experimental, especialmente Leonan Teixeira, Esther Silveira, Atyla Andrade e Laine Celestino Pinto, pela infindável parceria e por terem tornado prazerosas as muitas horas, dias e meses de experimento.

À pós-graduação em Farmacologia e Bioquímica da Universidade Federal do Pará, por promover acesso ao conhecimento e a formação de excelência.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

RESUMO

O acidente vascular cerebral (AVC) é terceira principal causa de morte e a principal causa de comprometimento funcional em adultos. Pode ser de natureza hemorrágica, quando há ruptura de um vaso sanguíneo no cérebro, ou isquêmica, quando ocorre obstrução do fluxo sanguíneo arterial cerebral. O AVC isquêmico é responsável por 87% dos casos, sendo caracterizado por excitotoxicidade, estresse oxidativo, neuroinflamação e morte celular. Atualmente, o tratamento para o AVC isquêmico é limitado à terapia com ativador do plasminogênio tecidual (tPA) ou trombectomia mecânica, o que torna crucial a busca por novas abordagens farmacológicas. Nesse cenário, a *Curcuma longa* Linn (*C. longa*), conhecida como cúrcuma, açafrão-da-terra ou tumérico, é uma planta popularmente usada na culinária e na medicina tradicional e tem como principal composto ativo a curcumina, responsável por conferir à *C. longa* efeito anti-inflamatório, antioxidante, antimicrobiano, antitumoral, anticancerígeno, entre outros. Na literatura, a *C. longa* demonstrou atividade promissora frente as lesões causadas pela isquemia cerebral, no entanto, os efeitos prolongados do composto permanecem desconhecidos. Nesse sentido, este trabalho avaliou os possíveis efeitos neuroprotetores da *C. longa* em modelo murino de isquemia cerebral focal transitória. Para isso, 20 ratos machos adultos da linhagem Wistar (com 8 semanas de idade, pesando 300 ± 20 g; CEUA-UFPA nº 6868300622 [ID 001229]) foram submetidos à cirurgia de oclusão da artéria cerebral média (OACM) por 30 minutos e tratados com *C. longa* (MOTORE®) na dose de 80 mg/kg de 12 em 12 horas por 14 dias. Os animais foram divididos em 4 grupos ($n = 4-5$ animais por grupo): 1) Sham + V (animais com cirurgia simulada que receberam veículo [NaOH 0,5M + PBS]), 2) Sham + CL (animais com cirurgia simulada que receberam *C. longa*), 3) OACM + V (animais submetidos a cirurgia de OACM que receberam veículo) e 4) OACM + CL (animais submetidos a cirurgia de OACM que receberam *C. longa*). Parâmetros metabólicos como ganho de peso e consumo de água e ração foram avaliados, assim como comportamentais através do escore de déficit neurológico e teste de caminhada na barra, bem como parâmetros histopatológicos com a mensuração da área e o volume de infarto. Em nossos resultados não foram encontradas diferenças no ganho de peso corporal entre os grupos experimentais. Por outro lado, o grupo sham + CL consumiu mais água do que os grupos sham + V, OACM + V e OACM + CL, assim como o grupo OACM + CL consumiu menos ração no 11º e 13º pós-isquemia. Quanto aos déficits comportamentais, tanto na análise do déficit neurológico quanto no teste de caminhada na barra, os prejuízos motores evidenciados pelos grupos OACM + V e OACM + CL não foram atenuados pelo tratamento com a *C. longa*. Ainda, o tratamento com a *C. longa* não atenuou as lesões causadas pela isquemia cerebral em nossas análises histológicas. Dessa forma, concluímos que o tratamento com a *Curcuma longa* por 14 dias não exerceu efeito neuroprotetor no modelo murino de acidente vascular cerebral isquêmico, sob nossas condições experimentais.

Palavras-chave: acidente vascular cerebral isquêmico, neuroproteção, plantas medicinais, *Curcuma longa*.

ABSTRACT

Stroke is the third leading cause of death and the main cause of functional impairment in adults. It can be hemorrhagic in nature, when a blood vessel in the brain ruptures, or ischemic, when there is obstruction of cerebral arterial blood flow. Ischemic stroke accounts for 87% of cases and is characterized by excitotoxicity, oxidative stress, neuroinflammation and cell death. Currently, treatment for ischemic stroke is limited to tissue plasminogen activator (tPA) therapy or mechanical thrombectomy, which makes the search for new pharmacological approaches crucial. In this scenario, *Curcuma longa* Linn (*C. longa*), known as turmeric, is a plant popularly used in cooking and traditional medicine and its main active compound is curcumin, responsible for giving *C. longa* anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial, antitumor, anticancer effects, among others. In the literature, *C. longa* has demonstrated promising activity against lesions caused by cerebral ischemia; however, the prolonged effects of the compound remain unknown. In this sense, this study evaluated the possible neuroprotective effects of *C. longa* in a murine model of transient focal cerebral ischemia. For that, 20 adult male Wistar rats (8 weeks old, weighing 300 ± 20 g; CEUA-UFPA no. 6868300622 [ID 001229]) underwent middle cerebral artery occlusion (MCAO) surgery for 30 minutes and treated with *C. longa* (MOTORE®) at a dose of 80 mg/kg every 12 hours for 14 days. The animals were divided into 4 groups (n = 4-5 animals per group): 1) Sham + V (animals with sham surgery that received vehicle [0.5 M NaOH + PBS]), 2) Sham + CL (animals with sham surgery that received *C. longa*), 3) MCAO + V (animals submitted to MCAO surgery that received vehicle) and 4) MCAO + CL (animals submitted to MCAO surgery that received *C. longa*). Metabolic parameters such as weight gain and water and food consumption were evaluated, as well as behavioral parameters through the neurological deficit score and the beam walking test, as well as histopathological parameters with the measurement of the infarct area and volume. In our results, no differences in body weight gain were found between the experimental groups. However, the sham + CL group consumed more water than the sham + V, MCAO + V and MCAO + CL groups, and the MCAO + CL group consumed less food on the 11th and 13th day after ischemia. Regarding behavioral deficits, both in the analysis of neurological deficit and in the beam walking test, the motor impairments evidenced by the MCAO + V and MCAO + CL groups were not attenuated by *C. longa*-treatment. Furthermore, treatment with *C. longa* did not attenuate the lesions caused by cerebral ischemia in our histological analyses. Thus, we conclude that treatment with *Curcuma longa* for 14 days did not exert a neuroprotective effect in the murine model of ischemic stroke, under our experimental conditions.

Keywords: Ischemic stroke, neuroprotection, medicinal plants, *Curcuma longa*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1 - Classificação dos tipos principais de acidente vascular cerebral.....	2
Ilustração 2 - Fisiopatologia do acidente vascular cerebral isquêmico (AVC isquêmico).....	4
Ilustração 3 - <i>Curcuma longa</i> Linn (<i>C. longa</i>).....	8
Ilustração 4 - Estrutura química da curcumina.....	9
Ilustração 5 - Delineamento experimental para avaliação dos efeitos da <i>Curcuma longa</i> em modelo murinho de acidente vascular encefálico isquêmico.....	12
Ilustração 8 - Representação da cirurgia de oclusão da artéria cerebral média (OACM).....	14
Ilustração 7 - Variação de ganho de peso em ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com <i>C. longa</i> por 14 dias.....	18
Ilustração 8 - Consumo mensurado a cada 48 horas de água (A) e consumo de ração (B) de ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com <i>C. longa</i> por 14 dias.....	19
Ilustração 9 - Escore de déficit neurológico/motor de ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com <i>C. longa</i> por 14 dias.....	20
Ilustração 10 - Teste de caminhada na barra em ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com <i>C. longa</i> por 14 dias.....	21
Ilustração 11 - Área de infarto causada pela lesão cerebral em ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com <i>C. longa</i> por 14 dias.....	22
Ilustração 12 - Volume de infarto causada pela lesão cerebral em ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com <i>C. longa</i> por 14 dias.....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Escore clínico para avaliação do Déficit Neurológico..... 15

Tabela 2 - Escore para avaliação do comportamento motor no Teste de Caminhada na Barra.....15

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

AVC	Acidente Vascular Cerebral
tPA	Ativador do Plasminogênio Tecidual
O₂	Oxigênio
ATP	Adenosina Trifosfato
Na⁺/K⁺	Sódio-Potássio
K⁺	Potássio
Na⁺	Sódio
Cl⁻	Cloreto
Ca²⁺	Cálcio
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina-6
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
NMDA	N-metil-D-aspartato
AMPA	A-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazole
iNOS	Óxido Nítrico Sintase Induzível
NO	Óxido Nítrico
ICAM-1	Molécula De Adesão Intercelular 1
SNC	Sistema Nervoso Central
<i>C. Longa</i>	<i>Curcuma Longa</i> Linn
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
i.p.	Intraperitoneal
OACM	Oclusão da Artéria Cerebral Média
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
NaOH	Hidróxido de Sódio
PBS	Solução Salina Tamponada com Fosfato
ACC	Artéria Carótida Comum
ACE	Artéria Carótida Externa
ACM	Artéria Cerebral Média

AI	Área de Infarto
VI	Volume de Infarto
AHC	Área do Hemisfério Contralateral
ANOVA	Análise de Variância
S1	Área Somatossensorial Primária
S2	Área Somatossensorial Secundária
CPU	Núcleo Caudado e Putâmen
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
DMSO	Dimetilsulfóxido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 O acidente vascular cerebral.....	1
1.1.1 Etiologia e epidemiologia do acidente vascular cerebral	2
1.1.2 Fisiopatologia do acidente vascular cerebral isquêmico	4
1.2 AVC isquêmico e plantas medicinais: novas perspectivas farmacológicas ...	7
1.2.1 A <i>Curcuma longa</i> Linn	8
2. OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral	10
2.2 Objetivos específicos.....	10
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3.1 Animais.....	11
3.2 Obtenção da <i>Curcuma longa</i> Linn.....	11
3.3 Delineamento experimental.....	11
3.4 Oclusão da artéria cerebral média	13
3.5 Mensuração do consumo de ingestão de água e ração	14
3.6.1 Análise de Déficit Neurológico	14
3.6.2 Teste de Caminhada na Barra	15
3.7 Análise histológica.....	16
3.8 Análise estatística.....	17
4. RESULTADOS	17
4.1 Avaliação dos parâmetros de variação de peso corporal e consumo de água e ração de animais submetidos à isquemia cerebral e tratados com <i>C. longa</i>	17
4.2 O tratamento com <i>C. longa</i> não reverteu os prejuízos neurológicos/motores causados pela isquemia cerebral.....	20
4.3 O tratamento com <i>C. longa</i> não reduziu a área e o volume de infarto causado pela isquemia cerebral.....	22
5. DISCUSSÃO.....	23
6. CONCLUSÕES.....	27
7. REFERÊNCIAS	28
8. COMPROVANTE DE SUBMISSÃO/ACEITE DE ARTIGO CIENTÍFICO	36

1. INTRODUÇÃO

1.1 O acidente vascular cerebral

O acidente vascular cerebral (AVC) é considerado a terceira principal causa de morte no mundo, atrás apenas de doenças cardíacas e câncer, e é a principal causa de comprometimento funcional e cognitivo em adultos, afetando cerca de 50% dos pacientes (Martin et al., 2024). Somente em 2021, mais de 93 milhões de indivíduos foram acometidos pelo AVC e 7,44 milhões evoluíram para o óbito nesse mesmo ano, o que em relação à 2011, caracteriza um aumento na taxa de mortalidade global de 26,3% (Martin et al., 2024). No Brasil, houve redução da taxa de mortalidade nos últimos anos, no entanto, a doença ainda foi responsável por 99.010 mortes em 2020 (Brasil, 2020).

Caracterizado por uma interrupção do fluxo sanguíneo arterial cerebral, o AVC pode ser global ou focal, permanente ou transitório. Ainda, há dois tipos principais de AVC: o hemorrágico, que pode ser principalmente de natureza intracerebral ou subaracnóidea, no qual há ruptura de um vaso sanguíneo e extravasamento de sangue, sendo o menos tratável e mais mortal, acarretando altas taxas de declínio cognitivo (Ohashi et al., 2023); e o isquêmico, o mais prevalente e incidente, que resulta de uma obstrução arterial ocasionado por trombose (coágulo sanguíneo formado em veias ou artérias) ou embolia (quando um trombo ou placa de gordura localizado em uma região diferente do corpo desprende-se e chega aos vasos cerebrais pela circulação sanguínea, causando obstrução) (Figura 1) (Guzik & Bushnell, 2017; Mozaffarian et al., 2016). O comprometimento do fluxo sanguíneo prejudica seriamente a entrega de nutrientes para o cérebro, causando disfunção e morte neuronal, o que contribui para as manifestações clínicas conhecidas do AVC, como afasia, hemiplegia, tontura, fraqueza, dificuldades de equilíbrio e coordenação, bem como problemas visuais, tais como obscurecimento da visão e visão turva (Ojaghihaghighi et al., 2017; Shichita et al., 2012; Moskowitz et al., 2010).

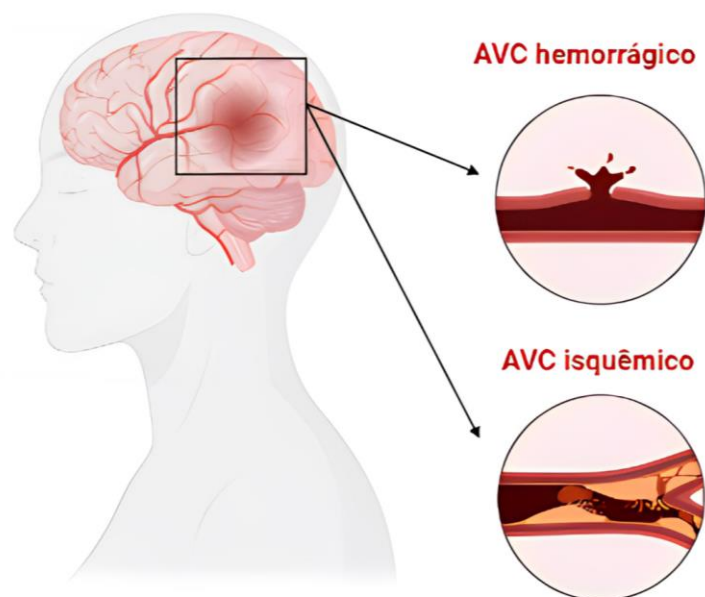


Figura 1. Classificação dos tipos principais de acidente vascular cerebral. Fonte: Adaptado de “Common Types of Strokes”, de BioRender.com (2024).

Atualmente, o tratamento para o AVC, quando de natureza isquêmica, consiste na intervenção imediata através de terapia trombolítica endovenosa com ativador do plasminogênio tecidual (tPA) em até 4,5 horas após o início do AVC, ou trombectomia mecânica, intervenção que pode ser feita em até 24 horas após o início dos sintomas (Wardlaw et al., 2014). O tratamento com terapias trombolíticas pode restaurar o fluxo sanguíneo, auxiliar contra o avanço do dano cerebral e melhorar a recuperação funcional dos pacientes, no entanto, limita-se a subsequente chegada do paciente no hospital, o que por vezes não se concretiza em tempo adequado. Aproximadamente 66% das mortes pelo AVC ocorrerem em pacientes que não chegam ao atendimento médico em tempo para manejo hospitalar (Martin et al., 2024), e aliado a falta recorrente de infraestrutura e recursos adequados para cuidados intensivos no âmbito hospitalar, essa problemática torna a corrida para novas intervenções farmacológicas para o AVC um desafio de saúde pública mundial.

1.1.1 Etiologia e epidemiologia do acidente vascular cerebral

A etiologia do AVC é atribuída a fatores de risco modificáveis, como pressão alta, diabetes, obesidade, hiperglicemia, hiperlipidemia e disfunção renal, e fatores comportamentais, como sedentarismo, tabagismo, dieta pouco saudável, além do próprio envelhecimento (Katan & Luft, 2018). Dessa forma, estratégias existentes para

reduzir a sua incidência consistem no controle destes fatores de risco, como a melhora da qualidade de vida, inclusão de dieta saudável e atividades físicas regulares, além do acompanhamento e manutenção de comorbidades, se houver (Martin et al., 2024).

Quanto a sua epidemiologia, homens e mulheres diferem quanto a incidência e mortalidade pelo AVC. A incidência do AVC é substancialmente mais baixa em mulheres jovens e de meia-idade (< 45 anos) do que em homens, mas esta diferença diminui conforme a faixa etária avança, e em idade avançada (> 65 anos), a incidência em mulheres é aproximadamente igual ou mesmo superior às dos homens (Martin et al., 2024; Guzik & Bushnell, 2017). Essas disparidades podem estar ligadas a mudanças no perfil fisiológico e hormonal atribuídas a menopausa (Sohrabji et al., 2017).

Geograficamente, também existem disparidades quanto a prevalência do AVC. Enquanto a África Subsaariana junto a Ásia Central e Oriental lideram as maiores taxas de incidência e mortalidade, a Australásia e Europa Ocidental apresentam as menores taxas (Martin et al., 2024). Certamente, esses dados são atribuídos a diferenças em relação ao status socioeconômico e nas condições de prevenção, tratamento agudo e reabilitação dos pacientes com AVC entre os países das regiões citadas (Katan & Luft, 2018; Guzik & Bushnell, 2017).

O Brasil lidera a segunda posição quanto a incidência e mortalidade pelo AVC entre os países latino-americanos, atrás apenas do Paraguai, enquanto Colômbia e Peru possuem as menores taxas de incidência (Martins et al., 2019). No Brasil, O AVC do tipo isquêmico é a patologia que mais causa incapacidade entre a população com idade maior que 65 anos, sendo causa de 10% do total de óbitos e 40% das aposentadorias precoces no país (Lobo et al., 2019). Embora o país apresente uma Política Nacional de AVC liderada pelo Ministério da Saúde, ainda há pouca conscientização pela população sobre o AVC e seus sinais e sintomas, o que contribui para a taxa prevalente de mortalidade que ainda assola o país e justifica a demora na chegada de pacientes nas unidades de atendimento (Martins et al., 2019).

A terapia trombolítica para pacientes com AVC isquêmico se encontra disponível em todos os países da América Latina, porém apenas 1% dos pacientes chegam a se beneficiar da intervenção (Martins et al., 2019). Nesse cenário, novas estratégias de prevenção primária e secundária de AVC, aliado a possibilidade de novas abordagens farmacológicas, se tornam imprescindíveis para diminuir a carga global de doença para o AVC.

1.1.2 Fisiopatologia do acidente vascular cerebral isquêmico

O acidente vascular cerebral do tipo isquêmico é o mais prevalente e mais incidente, sendo responsável por 87% dos casos de AVC no mundo, sendo mais de 69 milhões de pacientes acometidos em 2021 (Martin et al., 2024). O AVC isquêmico resulta de uma obstrução do sangue arterial cerebral causado por trombose ou embolia (Jolugbo et al., 2021), e na medida em que o cérebro necessita de um alto consumo de oxigênio e glicose, a falta desses substratos compromete o seu funcionamento e metabolismo energético, resultando em desequilíbrio iônico, despolarização dos neurônios e da glia, aumento do acúmulo de aminoácidos excitatórios, rompimento da barreira hematoencefálica, estresse oxidativo, neuroinflamação e morte neuronal (Figura 2) (Iadecola & Anrather, 2011; Moskowitz et al., 2010).

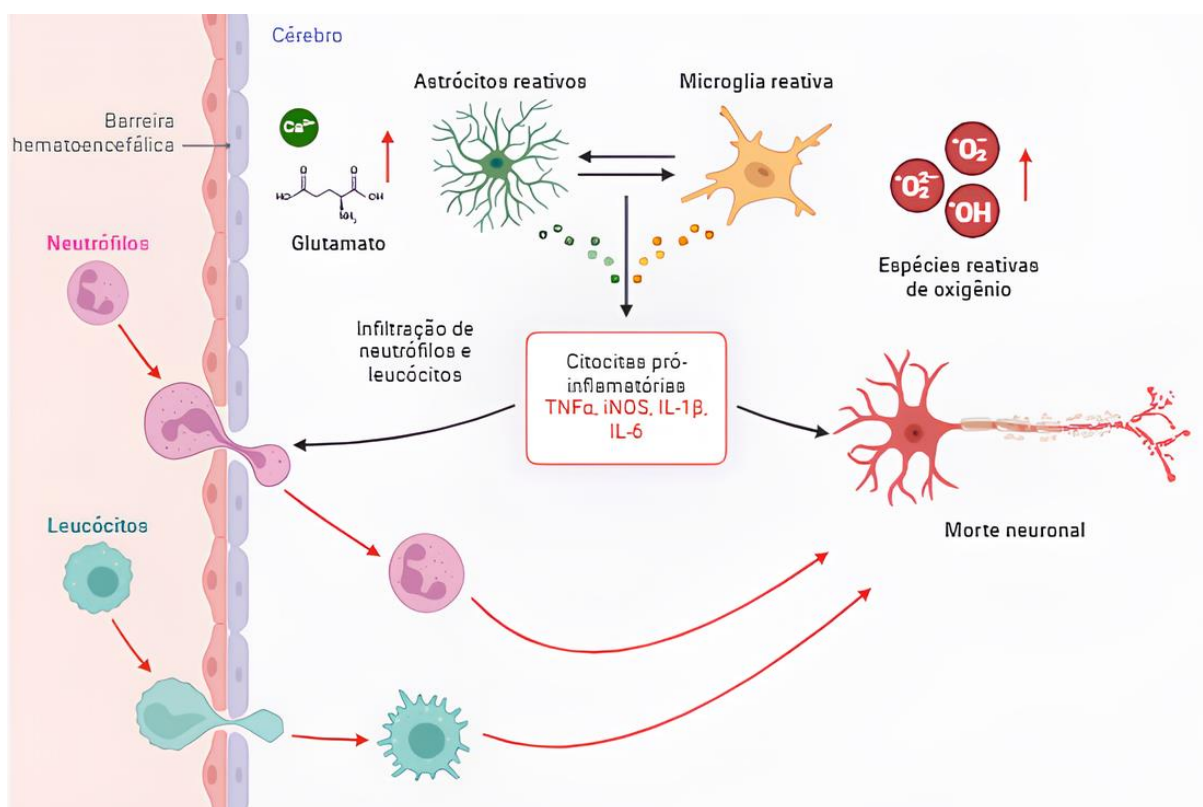


Figura 2. Fisiopatologia do acidente vascular cerebral isquêmico (AVC isquêmico). A privação de glicose e oxigênio leva a falha de energia, despolarização dos neurônios e consequente aumento dos níveis de glutamato e dos níveis intracelulares de cálcio (Ca^{2+}), sódio (Na^+), cloreto (Cl^-), enquanto o potássio (K^+) é liberado para o espaço extracelular. Os níveis elevados de Ca^{2+} ativam proteases, lipases e endonucleases, gerando radicais livres, como as espécies reativas de oxigênio (EROs). EROs danificam as membranas, mitocôndrias e DNA e ativam a via de apoptose, contribuindo para a indução de mediadores inflamatórios e a ativação da microglia e os astrócitos. A reatividade glial, por sua vez,

induz a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), além da expressão moléculas de adesão da superfície endotelial, assim como a produção de quimiocinas, que atraem neutrófilos e contribuem para a infiltração de células imunes periféricas para o centro da lesão. A somatória desses eventos deletérios leva a lesão e morte neuronal. Fonte: Adaptado de “Role of Astrocytes and Microglia Neurodegeneration”, de BioRender.com (2024).

Em poucos minutos a horas, a depleção de oxigênio (O₂) no cérebro culmina na falha de produção de energia neuronal. A depleção das reservas energéticas de adenosina trifosfato (ATP) e de glicose induz a célula a iniciar produção de lactato, desenvolvendo acidose e ativando proteases intracelulares, além de causar a falência da bomba de sódio-potássio (Na⁺/K⁺), resultando em despolarização de neurônios e da glia, perda de potássio (K⁺) e influxo acentuado de água, sódio (Na⁺), cloreto (Cl⁻), o que induz edema citotóxico por degeneração hidrópica (Xing et al., 2012). Ainda, a somatória desses eventos contribui para a liberação de cálcio (Ca²⁺) dos estoques celulares, culminando no aumento na concentração de Ca²⁺ intracelular. A concentração de Ca²⁺ em excesso ativa lipases, fosfolipases, proteases, ATPases e endonucleases, que são potencialmente deletérias para a função celular, estruturas da membrana plasmática e do citoesqueleto (Lipton, 1999), além de contribuir para o aumento do metabolismo de ácidos graxos livres, induzindo a produção de radicais superóxido e contribuindo para morte celular (Lai et al., 2014; Xing et al., 2012).

De maneira concomitante, o prejuízo energético celular prejudica a recaptação de glutamato, contribuindo para a excitotoxicidade por excesso de glutamato (Lai et al., 2014). Além disso, a interrupção do fornecimento sanguíneo ao cérebro causa distúrbios no metabolismo energético cerebral e despolarização pré-sináptica, o que aumenta ainda mais a liberação de glutamato e a excitotoxicidade (Lai et al., 2014). Com isso, há a ativação dos receptores ionotrópicos extracelulares excitatórios, como N-metil-D-aspartato (NMDA) e α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazole (AMPA), o que leva a abertura dos canais de Ca²⁺ dependentes de voltagem, permitindo influxo de Ca²⁺ (Szydlowska, 2010).

Somado a todos estes eventos, a perturbação da homeostase entre os sistemas oxidante e antioxidante cerebrais induz a um estado de estresse oxidativo inerente. Sob condições fisiológicas normais, o corpo produz espécies reativas de oxigênio (EROs) durante o metabolismo aeróbio e existe um equilíbrio dinâmico entre a produção e a eliminação de EROs. Na isquemia cerebral, a expressão e atividade de enzimas que promovem a produção e a inibição de ERO são alteradas, levando a

um acúmulo de EROs (Su et al., 2020), o que induz a uma alta expressão de óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e óxido nítrico (NO), danifica macromoléculas e leva à autofagia, apoptose e necrose celular (Orellana-Urzúa et al., 2020; Chamorro et al., 2016). Além disso, a restauração do fluxo sanguíneo durante a reperfusão também é responsável por uma segunda explosão de geração de EROs (Chamorro et al., 2016). Ainda, a infiltração de fagócitos e células gliais na região da lesão, como astrócitos e micróglia, também contribuem para o aumento da produção de EROs, como os ânions superóxidos, peróxido de hidrogênio ou peroxinitrito (Chamorro et al., 2016).

A resposta inflamatória também exerce um mecanismo chave na fisiopatologia da isquemia cerebral. Em poucas horas, a ativação da micróglia e dos astrócitos liberam mediadores inflamatórios, atuando de forma crucial na resposta ao dano tecidual. A micróglia possui um papel benéfico ou prejudicial dependendo do fenótipo assumido pela célula e da fase do AVC isquêmico (Qin et al., 2019). Na fase aguda da lesão isquêmica, a micróglia migra para o local da lesão e produz mediadores pró-inflamatórios, como interleucina 1 beta (IL-1 β), IL-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), entre outros, e este processo, concomitante aos processos anteriores, induz a expressão de moléculas de adesão da superfície endotelial, como a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), bem como P-selectinas e E-selectinas, que medeiam a adesão a células imunes periféricas como macrófagos/monócitos, neutrófilos e granulócitos às células endoteliais e a infiltração no parênquima cerebral, contribuindo para o aumento da neuroinflamação (Qin et al., 2019; Xiong et al., 2016; Iadecola & Anrather, 2011; Dirnagl et al., 1999). Contudo, conforme a evolução da isquemia, a micróglia passa a produzir citocinas anti-inflamatórias e fatores de crescimento essenciais para a reparação e remodelação tecidual durante a reperfusão (Jayaraj, et al., 2019; Rayasam et al., 2018).

Os astrócitos, por sua vez, desenvolvem respostas bioquímicas importantes no processo isquêmico. Em condições fisiológicas normais, os astrócitos estão envolvidos no controle da homeostase entre componentes nervosos, imunológicos e vasculares do sistema nervoso central (SNC), além de fornecer suporte funcional aos neurônios transportando glicose, fatores neurotróficos e neurotransmissores, como o glutamato (Cekanaviciute & Buckwalter, 2016). Durante o AVC isquêmico, no entanto, são reativos à citocinas, e a astrogliose reativa forma uma barreira na região peri-infarto na tentativa de manter a homeostase do SNC e isolar a lesão, na medida em que libera mediadores pró-inflamatórios (como IL-6, TNF- α , IL-1 α , IL-1 β), bem como

radicais livres, como óxido nítrico, superóxido e peroxinitrito (Xu et al., 2020; Sims & Yew, 2017).

Conforme a lesão avança, entre o centro isquêmico (onde há lesão permanente) e o tecido normal, forma-se a chamada zona de penumbra (ou zona de transição), região tecidual que circunda o núcleo (Ermine et al., 2020; Uzdensky, 2019). O dano tecidual na penumbra se desenvolve mais lentamente, fornecendo uma janela terapêutica a qual pode haver reparo tecidual e restrição do volume de infarto (Kanazawa et al., 2019; Duruka & Tatlisumak, 2007), ou seja, a zona de penumbra é uma região onde pode ser possível conter o dano. Estudos que buscam novas intervenções farmacológicas para o AVC isquêmico se concentram nesta região, uma vez que na zona de penumbra há formação de novos vasos entre os dias 4 e 7 pós isquemia (Sun et al., 2017), evento que permite um aumento do fluxo sanguíneo e de nutrientes metabólicos para as regiões afetadas. Além disso, na zona de penumbra, há a ocorrência de remodelação vascular e crescimento axonal (Kanazawa et al., 2017), o que pode explicar a recuperação espontânea da função após um evento isquêmico.

1.2 AVC isquêmico e plantas medicinais: novas perspectivas farmacológicas

Plantas medicinais são tradicionalmente conhecidas por possuir mecanismos biológicos capazes de agir na prevenção, tratamento ou cura das mais diversas patologias, sendo considerada uma alternativa terapêutica adjuvante à medicina convencional e uma vasta fonte para a descoberta e desenvolvimento de fármacos através dos seus compostos bioativos (Li et al., 2022; Zhu et al., 2022).

Nos últimos anos, a comunidade científica tem somado esforços para elucidar os mecanismos farmacológicos das plantas medicinais, como alvos e vias de atuação, sobretudo em doenças de cunho neurológico (Rauf & Rahman, 2022; Norouzkhani et al., 2022). No SNC, têm-se que compostos naturais podem agir suprimindo a produção de mediadores inflamatórios e oxidantes, aumentando os níveis de proteínas envolvidas na sobrevivência celular, além de poder atuar na promoção da neurogênese e angiogênese das mais variadas desordens, especialmente na isquemia cerebral (Liu et al., 2021; Yang et al., 2021; Liang et al., 2020; Qiu et al., 2019; Xue et al., 2016).

Estudos recentes indicam que uma alta ingestão de vegetais, legumes e frutas na dieta, está associada a uma expressiva prevenção e redução do risco de AVC

isquêmico ao longo da vida (Martin et al., 2024). Por outro lado, uma dieta inadequada e pobre em alimentos de origem vegetal está relacionada a um risco cinco vezes maior de incidência de AVC isquêmico em pacientes em idade avançada (Martin et al., 2024). Estudos pré-clínicos que investigam possíveis intervenções farmacológicas na isquemia cerebral com produtos naturais estão em percurso, com resultados promissores (Abdelsalam et al., 2023; Li et al., 2022; Zhu et al., 2022; Parrella et al., 2020). Dessa forma, possíveis novas terapias adjuvantes à terapia trombolítica, utilizando produtos naturais, tem se tornado uma proposta atraente para reduzir o dano isquêmico cerebral.

1.2.1 A *Curcuma longa* Linn

A *Curcuma longa* Linn (*C. longa*) é uma planta medicinal pertencente à família Zingiberaceae, e é conhecida popularmente como cúrcuma, açafrão, açafrão-da-terra, açafrão-da-Índia ou tumérico (Figura 3) (Nelson et al., 2017). Originária da Ásia, se desenvolve perfeitamente em zonas tropicais e subtropicais, o que facilitou a sua introdução no Brasil, onde é encontrada e cultivada na maioria dos estados do país (Brasil, 2020). A *C. longa* é uma das 71 plantas medicinais listadas na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), sendo apresentada como um fitoterápico eficaz e seguro em uso no Brasil e com potencial terapêutico para gerar medicamentos, estudos e pesquisas (Brasil, 2020).

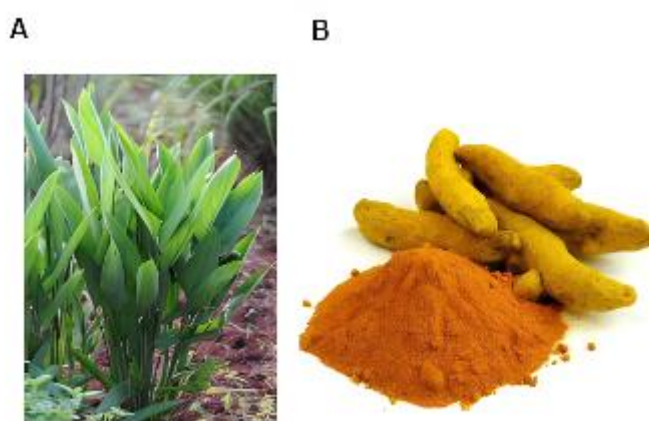


Figura 3. *Curcuma longa* Linn (*C. longa*). (A) Espécime da *C. longa*; (B) Açafrão em pó extraído dos rizomas da planta da *C. longa*. Fonte: Figura 3-A adaptada de Brasil (2020); figura 3-B adaptada com permissão de Subedi & Gaire (2021): Neuroprotective Effects of Curcumin in Cerebral Ischemia: Cellular and Molecular Mechanisms. *ACS Chemical Neuroscience*, 12(14), 2562–2572 Copyright 2024 American Chemical Society.

Além de ser uma especiaria tradicionalmente conhecida e presente na culinária em todo o mundo, a *C. longa* é abundantemente prescrita como fitoterápico para tratar doenças na medicina tradicional chinesa e indiana, como resfriados, sinusite, infecções bacterianas, alterações hepáticas, diabetes, feridas e reumatismo, tendo o seu uso datado a mais de 2.000 a. C. (Lee et al., 2013). Mundialmente, tem sido utilizada para tratar osteoartrite, distúrbios gastrointestinais e dermatológicos (Brasil, 2020). No Brasil, a sua forma comercializada como fitoterápico é utilizada para tratamento de doenças de cunho inflamatório de forma adjuvante ou alternativa a alguns fármacos convencionais (Brasil, 2020).

A *C. longa* é composta por três compostos bioativos principais, denominados curcuminóides: a curcumina (presente em cerca de 60-70% do extrato bruto), a demetoxicurcumina (presente em cerca de 20-27%) e a bisdesmetoxicurcumina (que compõe 10-15%) (Nelson et al., 2017). Seus efeitos farmacológicos são atribuídos, em maior parte, à curcumina, seu composto mais abundante (Figura 4) (Lee et al., 2013). A curcumina é um composto fenólico que, em pesquisas experimentais, é responsável pelos efeitos relacionados à *C. longa*, como efeito antimicrobiano, antitumoral, anticancerígeno, antimalárico, anticoagulante, antiespasmódico, antidispéptico, antiflatulento, leishmanicida, hipolipemiante, cicatrizante, nematocida, neuroprotetor, imunomodulador, anticonvulsivante, antioxidante, entre outros (Nascimento et al., 2022; Zhu et al., 2022; Memarzia et al., 2020; Ayati et al., 2019; Kocaadam et al., 2017).

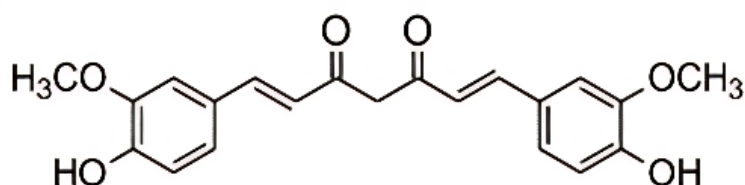


Figura 4. Estrutura química da curcumina. Fonte: adaptado de Sueth-Santiago et al. (2015)

Diversos estudos pré-clínicos e clínicos para doenças neurológicas utilizando *C. longa* estão em curso (Garodia et al., 2023; Zeng et al., 2021; Memarzia et al., 2021; Bhat et al., 2019). A *C. longa* tem sido utilizada como terapia adjuvante na doença de Alzheimer, estando em estudos clínicos de fase II (Brasil, 2020). Em estudos pré-clínicos recentes, o fitoterápico apresentou efeitos promissores documentados na isquemia cerebral (Zhu et al., 2022; Subedi & Gaire, 2021), exercendo efeitos anti-

inflamatórios, antioxidantes e anti-apoptóticos frente aos danos causados pela lesão (Huang et al., 2018; Xie et al., 2018; Liu et al., 2017; Zhang et al., 2017; Li et al., 2017).

Um estudo que investigou os efeitos da curcumina (200 mg/kg) via intraperitoneal (i.p.) 30 minutos após isquemia cerebral em ratos machos Sprague-Dawley, revelou que o composto atenuou o dano cerebral, a função neurológica e a inflamação (Huang et al., 2018). Em conformidade com esse achado, avaliou os efeitos da curcumina (200, 300 e 400 mg/kg) administrada 1 hora após isquemia cerebral via i.p., obtendo redução do volume do infarto e dos níveis de apoptose, além da melhora dos prejuízos neurológicos/funcionais de camundongos C57BL/6 machos (Xie et al., 2018). De maneira semelhante, a curcumina (150 mg/kg) administrada imediatamente e 24 horas após isquemia cerebral em camundongos C57BL/6 machos reduziu a lesão cerebral, a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-6, bem como melhorou os danos neurológicos (Liu et al., 2017).

Ainda que existam estudos que discutam os efeitos da *C. longa* na isquemia cerebral, algumas lacunas ainda precisam ser elucidadas, como a necessidade de uma investigação prolongada acerca dos efeitos da *C. longa*, bem como os efeitos nos déficits cognitivos/motores induzidos pelo AVC e que são manifestações chaves da sua clínica. Sendo assim, este trabalho investigou os possíveis efeitos neuroreparadores da administração de *C. longa* por 14 dias em um modelo murino de acidente vascular cerebral isquêmico transitório induzido pela oclusão da artéria cerebral média (OACM).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar as possíveis respostas neuroprotetoras e/ou neuroreparadoras da *Curcuma longa* frente aos danos causados em modelo murino de acidente vascular cerebral isquêmico por oclusão da artéria cerebral média.

2.2 Objetivos específicos

- a)** Avaliar os parâmetros de ganho de peso, ingestão de água e ingestão de ração de ratos machos adultos submetidos à isquemia cerebral e/ou tratados com *Curcuma longa*;

- b)** Avaliar o perfil comportamental (déficits neurológicos/motores) de ratos machos adultos submetidos à isquemia cerebral e/ou tratados com *Curcuma longa*;
- c)** Analisar o perfil histopatológico (área e volume de infarto cerebral) de ratos machos adultos submetidos à isquemia cerebral e/ou tratados com *Curcuma longa*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados 20 ratos machos da linhagem Wistar com 8 semanas de idade, pesando entre 300 $\pm$ 20 g, provenientes do Biotério do Instituto Evandro Chagas. Os ratos foram mantidos em temperatura controlada (22 $\pm$ 2°C), ciclo claro/escuro de 12/12 horas e alimentados com ração balanceada para ratos e água *ad libitum*. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Pará (nº 6868300622 [ID 001229]).

3.2 Obtenção da *Curcuma longa* Linn

A *Curcuma longa* (*C. longa*) foi obtida a partir do fitoterápico Motore® (Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A., Brasil), apresentado na forma de cápsula (250 mg) contendo 50 mg de curcuminóides. O composto foi solubilizado em solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,5 M + solução salina tamponada com fosfato (PBS) na proporção 1:1 (Chan et al., 1998), tendo o seu pH ajustado logo em seguida, sendo administrado de 12 em 12 horas por 14 dias via gavagem orogástrica na dose de 80 mg/kg (Nascimento et al., 2022).

3.3 Delineamento experimental

Após o período de 7 dias de aclimação dos animais em nosso laboratório, ratos machos adultos da linhagem Wistar foram submetidos à isquemia cerebral focal transitória por cirurgia oclusão da artéria cerebral média (OACM) por 30 minutos e tratados com *C. longa* por 14 dias via gavagem orogástrica (Figura 5).

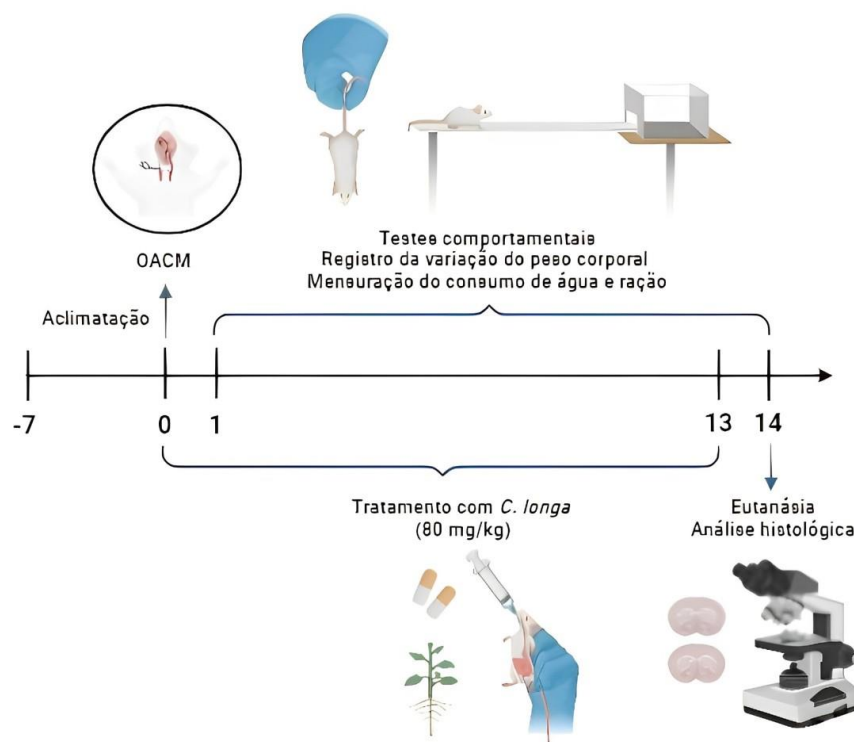


Figura 5. Delineamento experimental para avaliação dos efeitos da *Curcuma longa* em modelo murinho de acidente vascular encefálico isquêmico. Ratos machos adultos da linhagem Wistar foram aclimatados durante 7 dias em nosso laboratório e submetidos a cirurgia de oclusão da artéria cerebral média (OACM) por 30 minutos, seguido da primeira administração de *C. longa* 4,5 horas pós-isquemia e tratamento de 12 em 12 horas por 14 dias via gavagem orogástrica. Durante o período experimental, a variação de peso corporal foi registrada, bem como o consumo de água e comida. Testes comportamentais através do escore neurológico e caminhada na barra também foram aplicados. Ao término dos experimentos, os animais foram eutanasiados e os cérebros coletados para avaliação dos parâmetros histopatológicos. Fonte: autoria própria, criado com BioRender.com.

Os animais foram divididos em 4 grupos ($n = 4-5$ animais/grupo): (a) grupo Sham + Veículo (animais com cirurgia simulada que receberam NaOH 0,5M + PBS); (b) grupo Sham + CL (animais com cirurgia simulada que receberam *C. longa*); (c) grupo OACM + Veículo (animais submetidos à cirurgia de isquemia cerebral que receberam veículo) e (d) grupo OACM + CL (animais submetidos à cirurgia de isquemia cerebral com que receberam *C. longa*). Houve mortalidade de 5% ($n = 1$ animal) do grupo sham + CL pós administração de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), realizada antes do início da cirurgia simulada.

Ao longo do experimento, foram avaliados a variação de peso corporal dos animais a cada 24 horas, e o consumo de água e comida foi registrado a cada 2 dias. Além disso, foram avaliados os parâmetros comportamentais através da avaliação do déficit neurológico (todos os dias, por 14 dias) e o teste de caminhada na barra (no 1º, 3º, 5º, 7º, 9º, 11º e 13º dia pós-cirurgia).

Ao término dos experimentos, a eutanásia dos animais foi realizada e o cérebro coletado para avaliação dos parâmetros histopatológicos (área e volume de infarto).

3.4 Oclusão da artéria cerebral média

Os animais foram submetidos à isquemia cerebral focal transitória por OACM seguindo o protocolo descrito por Ferreira et al. (2021). Primeiramente, os animais foram anestesiados com uma injeção intraperitoneal (i.p) de 80 mg/kg de cetamina e 10 mg/kg de xilazina. Logo após a abolição do reflexo corneano, uma incisão na linha média cervical foi feita, revelando a artéria carótida comum (ACC) e a bifurcação da ACC em artéria carótida externa (ACE) e artéria carótida interna (ACI). Com o auxílio de um *clamp* cirúrgico, o fluxo sanguíneo para as artérias foi obstruído, e um monofilamento de nylon com a ponta recoberta por silicone (Docol Corp., Redlands, CA, EUA) foi inserido através da ACE, seguindo ACI até bloquear a base da artéria cerebral média (ACM), causando uma oclusão de 30 minutos (Figura 6). Ao término do tempo estabelecido, o filamento foi retirado para permitir a reperfusão do tecido por 14 dias. Animais sham (cirurgia simulada, controle) foram anestesiados e a bifurcação da artéria carótida direita foi exposta, porém nenhum filamento foi inserido. O pescoço e as incisões foram fechados e a ferida cirúrgica coberta com iodopovidine spray. Os animais foram devolvidos para suas gaiolas até retornar à consciência. Os animais receberam 500 mg/kg de dipirona sódica (via subcutânea) de 12h/12h durante 3 dias para analgesia em decorrência do procedimento cirúrgico.

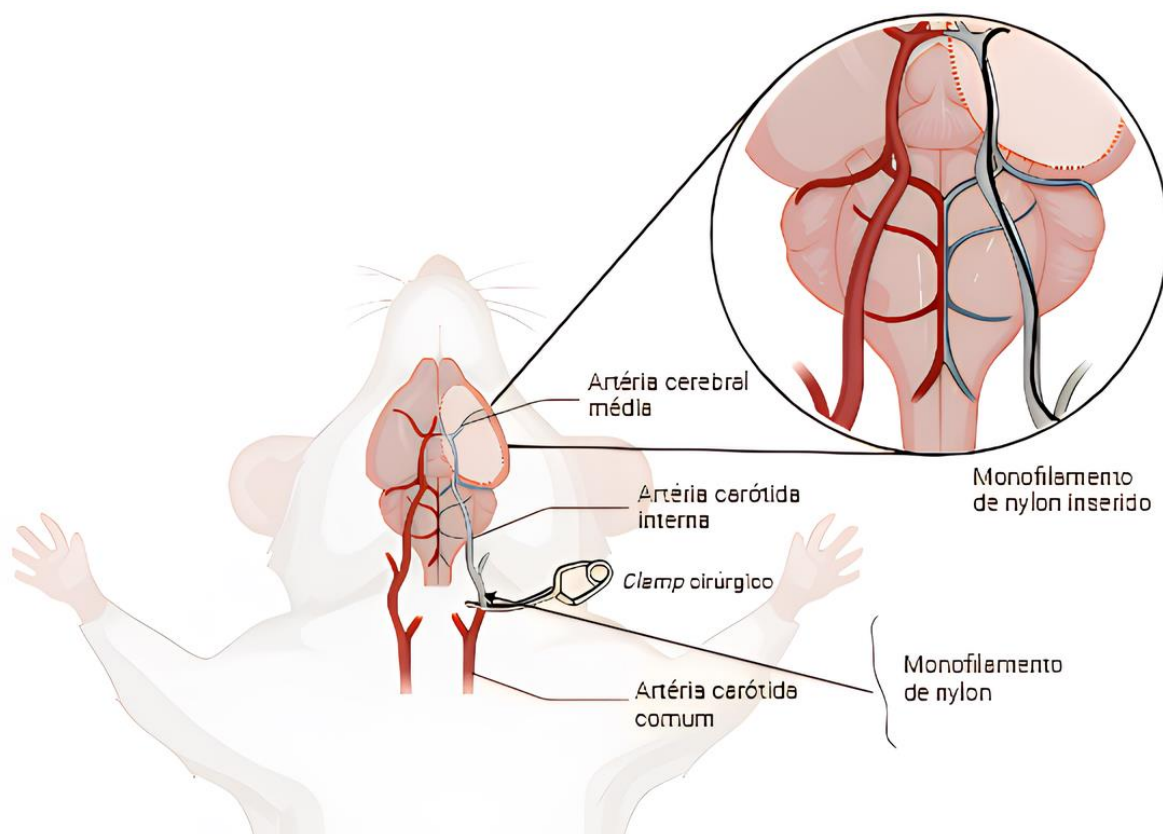


Figura 6. Representação da cirurgia de oclusão da artéria cerebral média (OACM). Fonte: Adaptado de “Mouse Model of Ischemic Stroke”, de BioRender.com (2024).

3.5 Mensuração do consumo de ingestão de água e ração

O consumo de ração e consumo de água pelos animais foi mensurado a cada 48 horas durante os 14 dias de experimento de tratamento da *C. longa*, sendo apresentado o consumo médio total dos animais todos os dias. A mensuração do consumo foi avaliada através do seguinte cálculo:

$$\text{Ingestão de ração/água} = \frac{(\text{ração/água ofertada}) - (\text{ração/água restante após 48h})}{\text{n}^\circ \text{ de animais na gaiola}}$$

3.6 Análise comportamental

3.6.1 Análise de Déficit Neurológico

Durante os 14 dias de experimento, a cada 24 horas, foi realizado a análise de déficit neurológico dos animais submetidos a OACM a cada 24h (Broughton et al., 2013). Na avaliação, o comportamento motor dos animais foi avaliado e associado a um escore clínico, mensurado dentro de uma escala de 5 pontos (Tabela 1).

Tabela 1. Escore clínico para avaliação do Déficit Neurológico.

Escore	Descrição
0	Sem desvio do comportamento motor
1	Perda leve do tônus muscular dos membros anteriores contralateral a lesão
2	Movimento circular para o lado contralateral a lesão, além de perda de tônus muscular nos membros contralaterais a lesão, quando suspenso pela cauda
3	Movimento circular espontâneo para o lado contralateral a lesão
4	Nenhuma atividade motora espontânea

Fonte: autoria própria, baseado nos dados apresentados por Broughton et al. (2013)

3.6.2 *Teste de Caminhada na Barra*

O teste de caminhada na barra foi realizado nos 1º, 3º, 5º, 7º, 9º, 11º e 13º dia pós-operatório para avaliar déficits na integridade e coordenação do movimento motor, principalmente nos membros posteriores (Yang et al., 2019). A marcha dos animais sobre uma viga de madeira (100 cm x 25 cm), elevada 60 cm do chão, foi avaliada durante o período máximo de 60 segundos (ou encerrada quando o animal atravessava o aparato e concluía a tarefa). Cada comportamento motor durante a caminhada foi associado à um escore mensurado de 0-6 (Tabela 2). Os animais foram treinados por três dias consecutivos para atravessar a barra antes da OACM. Todas as sessões do teste foram registradas por uma câmera Logitech HD Pro 1080p C920.

Tabela 2. Escore para avaliação do comportamento motor no Teste de Caminhada na Barra.

Escore	Descrição
0	Animal incapaz de andar sobre a barra
1	Animal incapaz de andar sobre a barra, mas capaz de sentar-se sobre a barra
2	Animal que caiu durante marcha sobre a barra
3	Animal que apresenta paralisia do lado contralateral a lesão e se locomove sem a ajuda da pata traseira contralateral, porém é capaz de atravessar a barra

4	Animal que atravessou a barra com mais de 50% de deslizos da pata traseira contralateral a lesão em função do número de passos
5	Animal que atravessou a barra com menos de 50% deslizos da pata traseira contralateral a lesão em função do número de passos
6	Animal que atravessou sem queda ou qualquer outro sinal de declínio motor (deslizar das patas traseiras)

Fonte: autoria própria, baseado nos dados apresentados por Yang et al. (2019)

3.7 Análise histológica

Para a análise da área e volume de infarto cerebral, primeiramente, os animais foram anestesiados com uma solução de 80 mg/kg de cloridrato de cetamina associado com 10 mg/kg de cloridrato de xilazina (via i.p.) e perfundidos por via intracardíaca com PBS seguido de solução de formaldeído (4%), ambas com pH 7,2. Em seguida, os encéfalos foram dissecados e pós-fixados em formaldeído à 4% por até 72 horas e, posteriormente, colocados em solução de sacarose 30% para criopreservação até a decantação dos encéfalos. Feito isso, cada encéfalo foi cortado em secções coronais de 40 µm de espessura com uso de um criostato, e por fim, tiveram suas secções montadas sobre lâminas de vidro gelatinizadas e coradas com Nissl (0,3%) para delineamento da área de infarto (Rousselet et al., 2012).

Para a realização da coloração de Nissl, as lâminas foram imersas em uma bateria alcóolica decrescente de álcool (90, 70 e 50%) por 5 minutos cada, seguido de imersão em solução de ácido acético (5%) por 5 minutos, imersão em violeta de cresila por 10 minutos e, em seguida, imersões em concentrações crescente de álcool para desidratação (70, 90 e 100%), diafanizadas em xilol e finalmente montadas sob lamínulas com Entelan®.

Para a mensuração da área de infarto, a porcentagem da área de infarto (AI) foi quantificada (Teixeira et al., 2023) com o auxílio do software de análise de imagem Image J (NIH, Bethesda, EUA), de acordo com o seguinte cálculo:

$$AI (\%) = (\text{área do infarto} / \text{área do hemisfério ipsilateral}) \times 100$$

No qual AI é a porcentagem da área de infarto, área de infarto é a área de lesão quantificada pelo software Image J e área do hemisfério ipsilateral é a área total do hemisfério da lesão cerebral quantificada pelo software Image J.

Ainda, o volume de infarto foi mensurado utilizando-se a fórmula proposta por Broughton et al. (2013) com o auxílio do software de análise de imagem Image J (NIH, Bethesda, EUA), de acordo com o seguinte cálculo:

$$VI = [AHC - (AHI - AI)] \times (\text{espessura da seção} + \text{distância entre as seções})$$

No qual VI é o volume corrigido de infarto, AHC é a área do hemisfério contralateral a lesão, AHI é a área do hemisfério ipsilateral a lesão e AI é a área de infarto quantificada no hemisfério ipsilateral a lesão pelo software Image J.

3.8 Análise estatística

Para as análises estatísticas, primeiramente, foi realizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk para verificar a normalidade das distribuições. Após amostras apresentarem distribuição normal, as comparações entre três ou mais grupos foi feita por meio da Análise de Variância (ANOVA) dois critérios, seguida do pós-teste de Tukey, e apresentados como média $\pm$ desvio padrão para variação de ganho de peso, consumo de água e consumo de ração. Após amostras apresentarem distribuição não-normal, as comparações entre três ou mais grupos foram feitas através do teste de Kruskal-Wallis e apresentados como mediana para escore neurológico e caminhada na barra. Comparações entre dois grupos, após dados apresentarem distribuição normal, foram feitas pelo test t de *Student* para a área de infarto e volume de infarto. Todos os testes adotaram $p < 0,05$ como estatisticamente significativo. As análises estatísticas foram realizadas usando o programa GraphPad Prism version 10.1 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA).

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação dos parâmetros de variação de peso corporal e consumo de água e ração de animais submetidos à isquemia cerebral e tratados com *C. longa*

Em relação a variação de peso corporal ($F_{(39, 210)} = 0,1477$, $p > 0,9999$), não encontramos diferenças entre os grupos sham (veículo e CL) e grupos OACM (veículo e CL) ($p < 0,9999$, para todas as comparações, todos os dias), mostrando que todos os grupos ganharam peso de maneira semelhante e que a administração de *C. longa*

por 14 dias não causou alterações no parâmetro de variação de peso corporal ao longo do experimento (Figura 7).

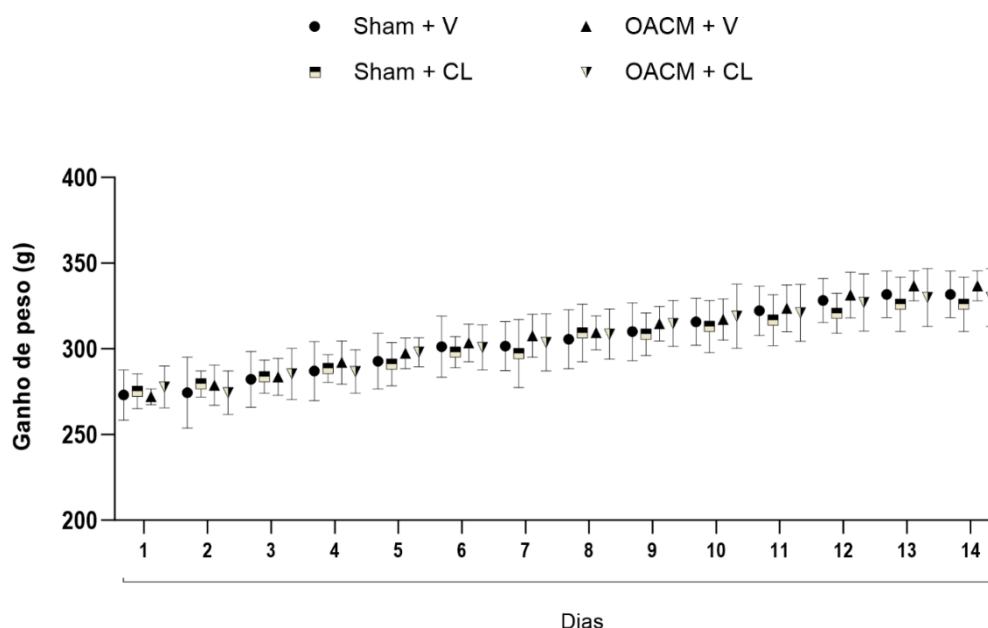


Figura 7. Variação de ganho de peso em ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com *C. longa* por 14 dias. Os dados estão representados após análise por ANOVA dois critérios seguido de pós-teste de Tukey. $N = 4-5$ animais por grupo. Fonte: autoria própria.

Em relação ao consumo de água ao longo do experimento ($F_{(15, 90)} = 18,45$, $p < 0,0001$), foi observado que os animais do grupo sham + CL ingeriram mais água em relação ao grupo sham + V em todos os dias, exceto no 7º ($p < 0,05$, para todas as comparações); e em relação ao grupo OACM + V em todos os dias ($p < 0,0001$, para todas as comparações). Ainda, os animais do grupo sham + CL também ingeriram mais água do que o grupo OACM + CL no 3º e do 9º ao 13º dia ($p < 0,0001$, para todas as comparações). Além disso, o grupo OACM + V ingeriu menos água do que o grupo sham + V e OACM + CL no 5º e no 7º dia pós-isquemia ($p < 0,001$, para todas as comparações). Por fim, o grupo OACM + CL ingeriu menos água em relação a todos os grupos no 11º ($p < 0,0001$, para todas as comparações) e no e 13º dia ($p < 0,0001$ em relação ao grupo sham + V e sham + CL; $p < 0,05$ em relação ao OACM + V) (Figura 8-A).

Quanto ao consumo de ração ($F_{(15, 90)} = 7,907$, $p < 0,0001$), foi observado que o grupo sham + CL, OACM + V e OACM + CL consumiram mais ração que o grupo sham + V no 3º dia pós isquemia ($p < 0,0001$, para todas as comparações). No 7º dia, foi observado que o grupo OACM + CL consumiu mais ração que o grupo sham + CL

($p < 0,05$). Ainda, no dia 11, o grupo OACM + V apresentou consumo médio de ração maior em relação aos grupos sham + CL ($p < 0,0001$) e OACM + CL ($p < 0,05$). Por fim, no 13º dia, o grupo OACM + CL consumiu menos ração em relação ao grupo sham + V ($p < 0,0001$), sham + CL ($p < 0,001$) e OACM + V ($p < 0,0001$) (Figura 8-B).

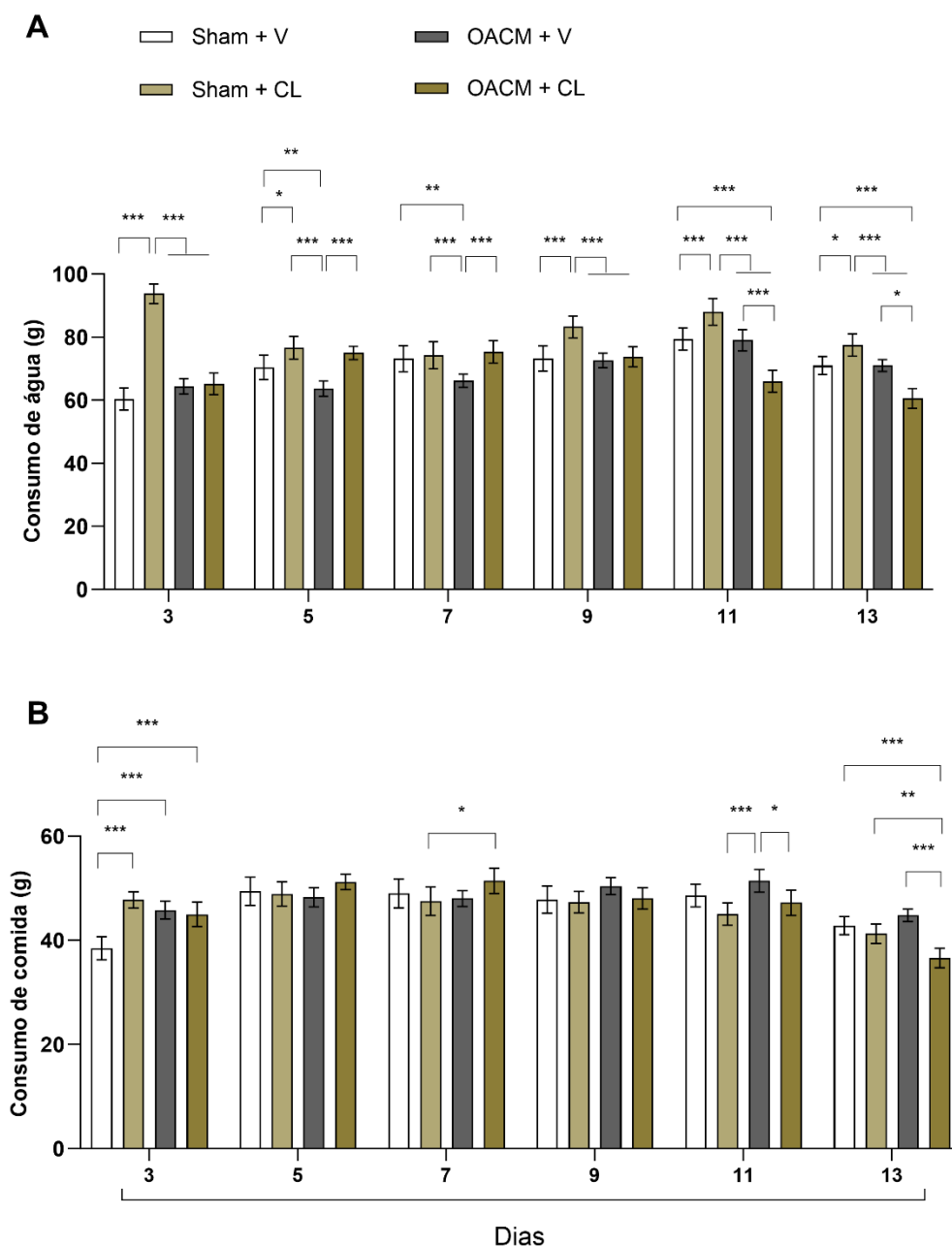


Figura 8. Consumo mensurado a cada 48 horas de água (A) e consumo de ração (B) de ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com *C. longa* por 14 dias. Os dados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão e representados após ANOVA dois critérios seguido de pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$. $N = 4-5$ animais por grupo. Fonte: autoria própria.

4.2 O tratamento com *C. longa* não reverteu os prejuízos neurológicos/motores causados pela isquemia cerebral

A avaliação do déficit neurológico dos animais submetidos à isquemia e tratados ou não com *C. longa* foi realizada todos os dias seguindo os critérios de escore previamente descritos na tabela 1. Como esperado, os grupos sham + V e sham + CL não apresentaram nenhum déficit motor, portanto, não apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,9999$, para todos os dias). Tanto o grupo OACM + V, quanto o grupo OACM + CL, apresentaram déficits motores significantes em relação aos grupos sham + V e sham + CL todos os dias (D1 ao D14) (Figura 9; $p < 0,05$, para todas as comparações). No entanto, os grupos OACM + V e OACM + CL não apresentaram diferenças entre si ($p < 0,9999$, para todas as comparações, todos os dias), mostrando que o tratamento com *C. longa* não exerceu influência frente ao comprometimento motor causado pela isquemia cerebral.

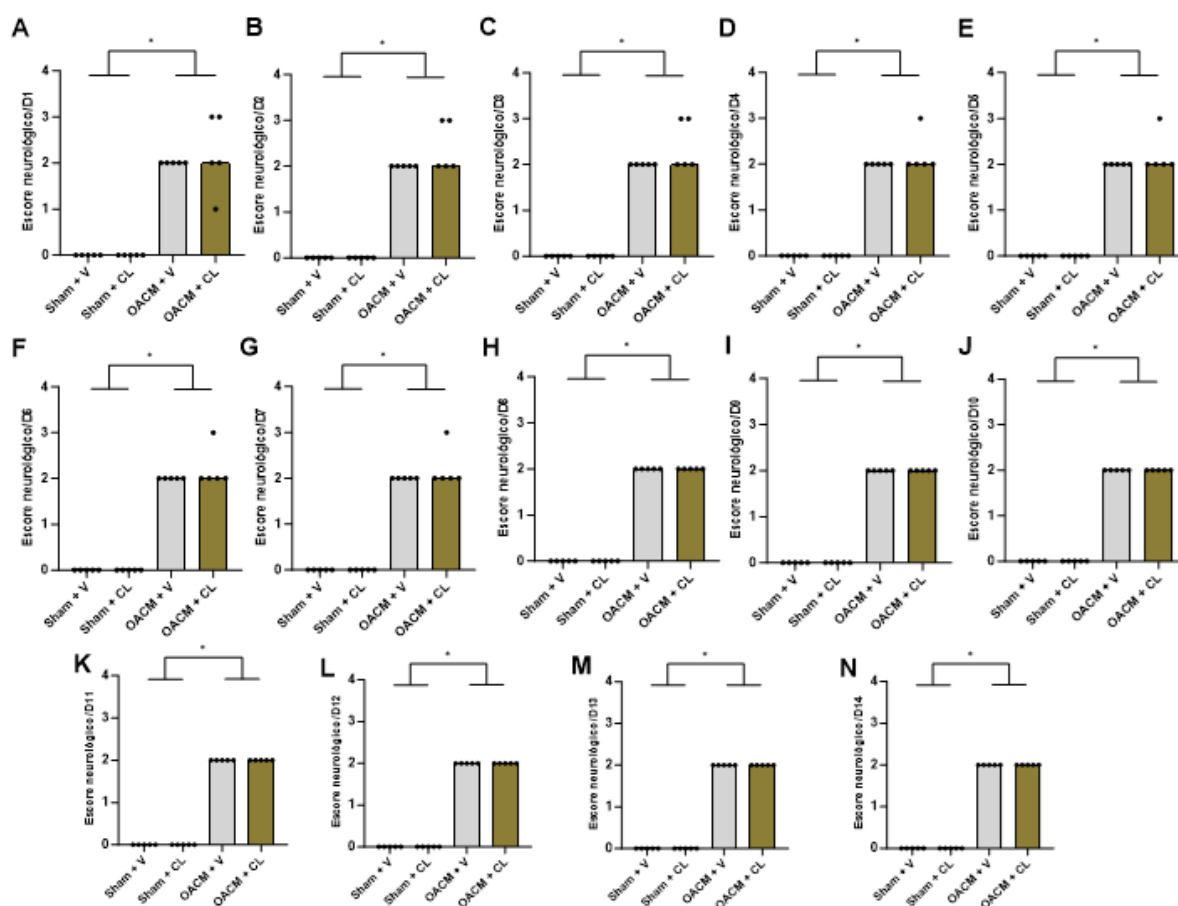


Figura 9. Escore de déficit neurológico/motor de ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com *C. longa* por 14 dias. Os dados estão expressos como mediana e representados pós análise do teste de Kruskal-Wallis. * $p < 0,05$. $N = 4-5$ animais por grupo. Fonte: autoria própria.

Em relação ao teste de caminhada na barra, os grupos sham + V e sham + CL não apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,9999$, para todos os dias). Foi observado diferenças entre o grupo OACM + V e os grupos sham (veículo e CL) no 5º dia de experimento (D5) (Figura 10-C), e diferenças entre o grupo OACM + CL e os grupos sham (veículo e CL) no D1, D3 e D9 (Figura 10-A, 10-B e 10-E, respectivamente). Não houve diferenças entre os grupos no D11 (Figura 10-F) e no D13 (Figura 10-G), mostrando que a melhora no quadro clínico dos grupos OACM + V e OACM + CL é intrínseca no modelo de isquemia cerebral e ocorre conforme o cérebro vai se remodelando frente ao prejuízo neuronal (Farr & Trueman, 2011). Concomitantemente, não houve diferenças entre os grupos OACM + V e OACM + CL durante todos os dias de realização do teste, mostrando que a *C. longa* não exerceu influências nas avaliações da caminhada na barra ($p < 0,9999$, para todas as comparações, todos os dias).

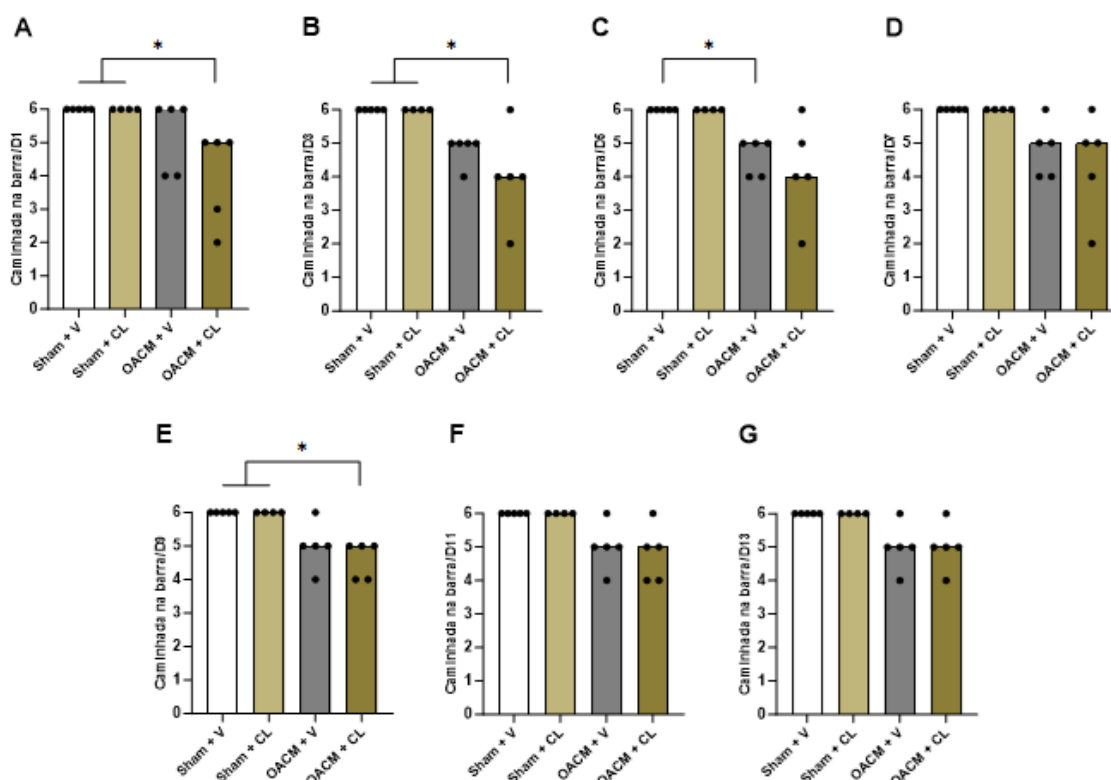


Figura 10. Teste de caminhada na barra em ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com *C. longa* por 14 dias. Os dados estão expressos como mediana e representados pós análise do teste de Kruskal-Wallis. * $p < 0,05$. $N = 4-5$ animais por grupo. Fonte: autoria própria.

4.3 O tratamento com *C. longa* não reduziu a área e o volume de infarto causado pela isquemia cerebral

A área de infarto das regiões do córtex somatossensorial primário e secundário, bem como do corpo estriado (envolvendo os núcleos caudado, putâmen e globo pálido) (BREGMA +0.836 mm) dos animais submetidos a isquemia cerebral foi mensurada e não foi verificada diferença entre o grupo OACM + V e OACM + CL, nos quais média de $36,4 \pm 2,9\%$ e $33,4 \pm 8,8\%$ de área de lesão foi observado para os respectivos grupos (Figura 11; $p < 0,9999$).

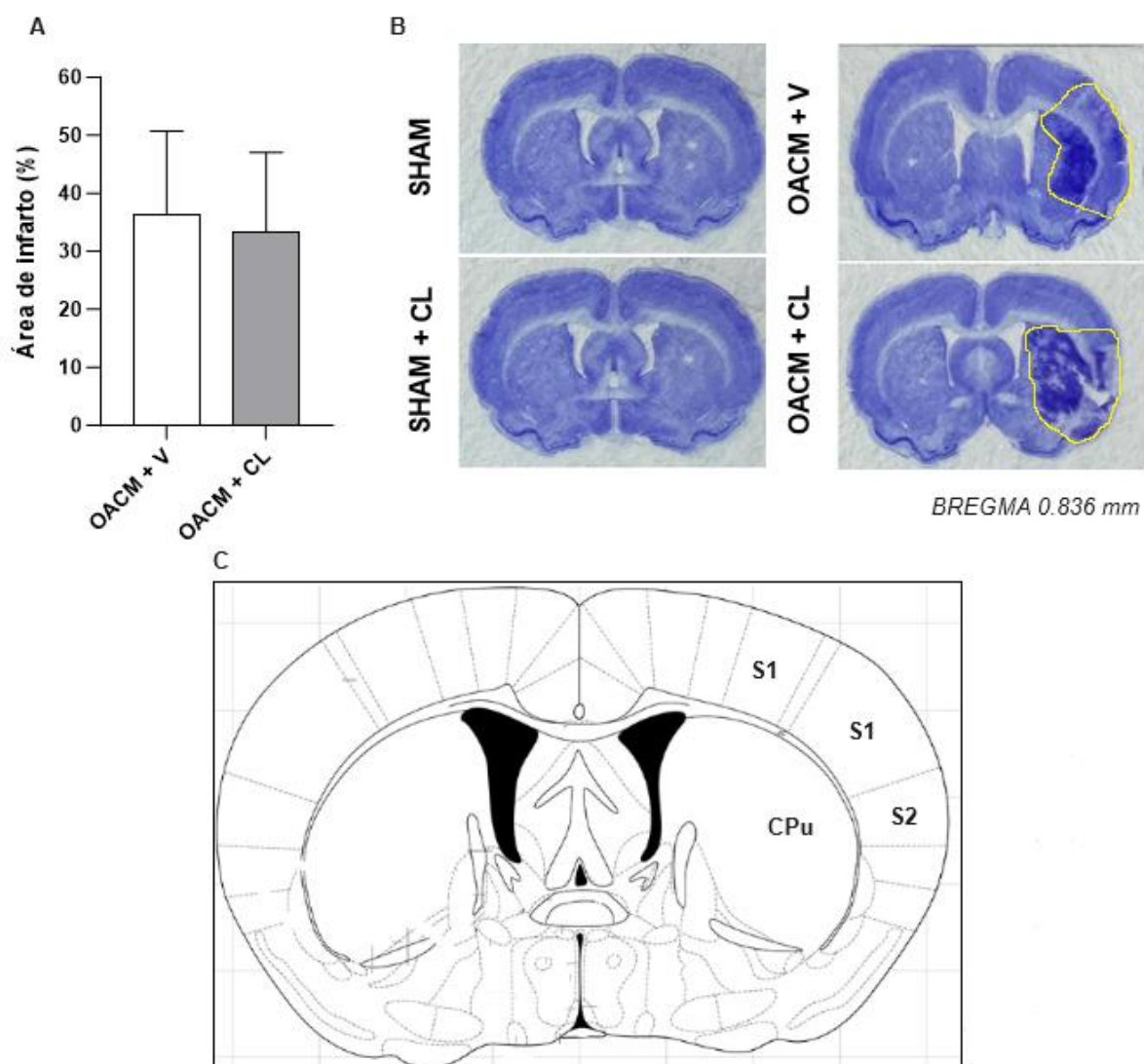


Figura 11. Área de infarto causada pela lesão cerebral em ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com *C. longa* por 14 dias. (A) porcentagem média do hemisfério cerebral lesionado; (B) Imagem representativa das seções histológicas de animais submetidos a OACM: grupo sham (esquerda) e grupo OACM (direita); (C) Representação esquemática das áreas cerebrais lesionadas: S1 (área somatossensorial primária); S2 (área somatossensorial secundária); CPu (núcleo caudado e putâmen). Os dados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão e representados após análise com o teste T de Student. $N = 4-5$ animais

por grupo. Fonte: Figura 11-A e 11-B autoria própria; figura 11-C adaptada de <https://labs.gaidi.ca/mouse-brain-atlas/> (2024).

Ainda, o volume de infarto foi avaliado, na qual toda a extensão da lesão cerebral dos animais submetidos à isquemia foi analisada. Não foi verificada diferenças entre o grupo OACM + V ($0,051 \pm 0,01 \text{ cm}^3$) e OACM + CL ($0,071 \pm 0,01 \text{ cm}^3$) (Figura 12; $p < 0,9999$), revelando que o tratamento por 14 dias com 80 mg/kg de *C. longa* não foi capaz de exercer influências sobre a lesão causada pela OACM.

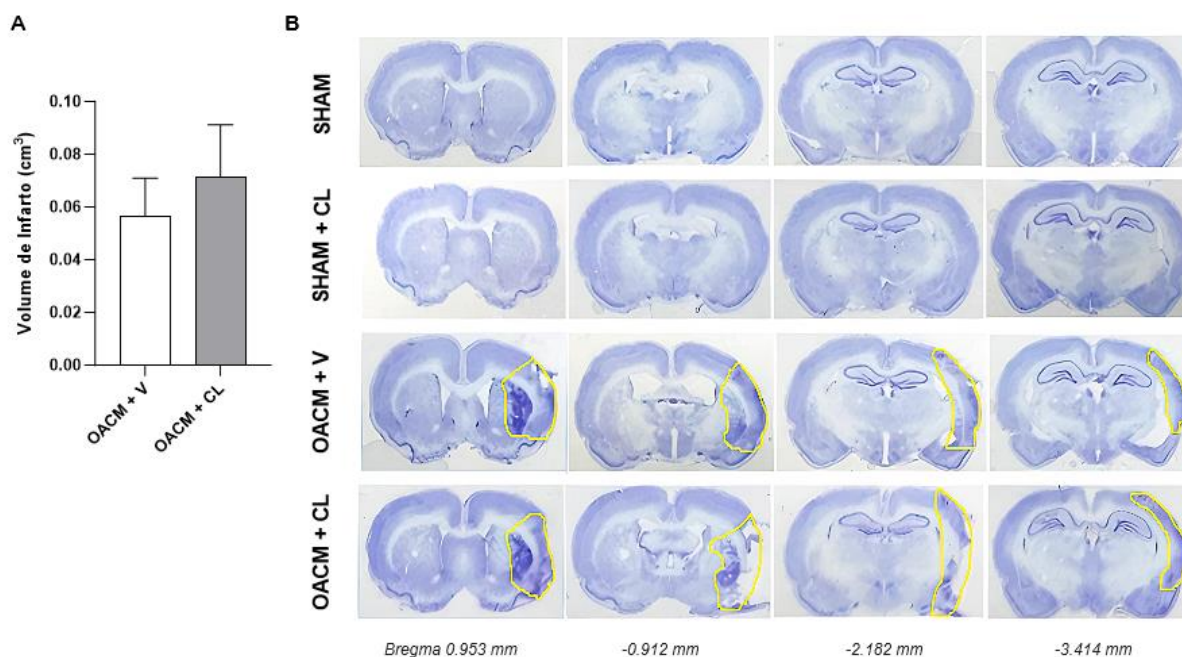


Figura 12. Volume de infarto causada pela lesão cerebral em ratos machos adultos Wistar submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média e tratados com *C. longa* por 14 dias. (A) Média do hemisfério cerebral lesionado em cm^3 ; (B) Imagens representativas das secções histológicas de animais submetidos a OACM. Os dados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão e representados após análise com o teste T de Student. $N = 4-5$ animais por grupo. Fonte: autoria própria.

5. DISCUSSÃO

O AVC isquêmico é um problema de saúde pública mundial e a descoberta de novas terapias farmacológicas segue desafiadora frente a limitada janela terapêutica enfrentada pelos pacientes. Nos últimos anos, têm-se aumentado o número de estudos que buscam elucidar os conhecimentos acerca dos mecanismos das plantas medicinais, que já revelaram possuir propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes frente ao AVC isquêmico em estudos experimentais com modelos animais (Zhu et al., 2022; Subedi & Gaire, 2021). Nesse sentido, este trabalho levantou a hipótese de que o tratamento com *Curcuma longa* por 14 dias em ratos machos submetidos a isquemia

cerebral por oclusão da artéria cerebral média (OACM) poderia proteger/reparar a lesão e os danos comportamentais pós-isquêmicos.

O monitoramento do ganho/perda de peso e do consumo de água e comida é um importante indicativo do estado de saúde dos animais, sobretudo pós-AVC isquêmico (Modo et al., 2000), além de indicar possíveis alterações metabólicas pelo consumo do extrato natural. Em nossos resultados, a *C. longa* não influenciou o ganho de peso entre os grupos experimentais sham (veículo e CL) e OACM (veículo e CL), comprovando a segurança em seu uso (Brasil, 2020).

Quanto aos parâmetros de consumo de água e ração, observamos que o grupo sham tratado com *C. longa* (sham + CL) consumiu mais água do que os grupos sham + V (todos os dias pós cirurgia de isquemia cerebral, exceto o 7º), OACM + V (todos os dias pós-cirurgia) e OACM + CL (no 3º, no 9º e no 13º dia). Ainda, notamos que o grupo OACM + CL diminuiu a ingesta de ração nos últimos dias de análise experimental (no 11º dia, em relação ao grupo OACM + V; e no 13º dia, em relação a todos os outros grupos). Quanto ao maior consumo de água evidenciado pelo grupo sham + CL, sugerimos que a *C. longa* parece ter exercido um efeito diurético, anteriormente documentado em outros trabalhos (Nirumand et al., 2018). Por outro lado, o mesmo efeito não foi evidenciado pelo grupo OACM + CL, o que pode estar atribuído a um padrão comportamental normal ligado ao pós-cirúrgico, no qual observamos uma menor procura pela ingesta de água e ingesta de ração ao longo do nosso estudo.

A avaliação dos déficits neurológicos é um importante parâmetro comportamental para se investigar as lesões motoras causadas por isquemia cerebral e para se comprovar a eficácia do modelo de OACM (Broughton et al., 2013). Dessa forma, uma tradução dos déficits neurológicos é a perda do tônus muscular contralateral ao lado do hemisfério que sofreu hipóxia, o que causa rotação para o lado oposto a cirurgia e alterações na postura de repouso dos animais (Donnan et al., 2008). Essas manifestações motoras se somam às alterações de equilíbrio e caminhada evidenciadas no paciente acometido pelo AVC e avaliadas neste estudo através do teste de caminhada na barra. Sendo assim, os grupos OACM (veículo e CL) apresentaram diferenças na avaliação do déficit neurológico e no teste de caminhada na barra em relação aos grupos sham (veículo e CL), mostrando um comportamento motor compatível com o quadro pós-isquêmico. Contudo, o

tratamento com *C. longa* não foi capaz de reverter os prejuízos comportamentais/motores evidenciados por estas duas análises.

A cirurgia de OACM tem como característica a privação de irrigação sanguínea para a superfície lateral dos lobos frontal, parietal e temporal, bem como os núcleos da base e cápsula interna (Netter, 2018), e nesse sentido, causa lesões em regiões importantes para o processamento sensório-motor, como o córtex somatossensorial e o estriado (Fukui et al., 2020). Sendo assim, buscamos avaliar se a *C. longa* seria capaz de reduzir a lesão nas áreas infartadas desta região; entretanto, não observamos diferenças entre os grupos submetidos à isquemia e aqueles também tratados com *C. longa* tanto na avaliação da área de infarto, quanto na avaliação do volume de infarto. Obtendo resultados diferentes, Alcântara et al. (2017) revelaram que a curcumina administrada via oral (25 ou 50 mg/kg) por 7 dias aumentou a sobrevivência neuronal e atenuou os níveis da ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no hipocampo de ratos submetidos à isquemia global cerebral por 30 minutos.

O nosso trabalho foi o primeiro a avaliar os efeitos do extrato seco da *C. longa* comercializada como o fitoterápico Motore[®], bem estabelecida para tratar pacientes acometidos com artrite reumatoide (Brasil, 2020), por 14 dias em um modelo de AVC isquêmico experimental. Ainda, de maneira distinta da maioria dos trabalhos existentes na literatura que avaliam os efeitos da *C. longa* na isquemia cerebral através da curcumina, o seu principal composto bioativo, de maneira isolada (Subedi & Gaire, 2021), o nosso trabalho investigou o extrato da *C. longa* com todos os seus curcuminoides. Supomos que o desfecho da *C. longa* não ter revelado efeitos em nosso modelo tenha justificativa nas propriedades farmacocinéticas do extrato, que embora seja extensamente investigado em estudos pré-clínicos e clínicos em doenças cerebrais com perspectivas promissoras (Kunnumakkara et al., 2023; Garodia et al., 2023; Zeng et al., 2021), possui menor eficácia via oral do que quando administrada por outras vias em modelos animais (El-Saadony et al., 2022; Dei Cas & Ghidoni, 2019; Nelson et al. 2017).

A curcumina possui capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (Concetta Scuto et al., 2019), no entanto, a sua administração oral tem como característica uma baixa absorção pelo intestino delgado (Dei Cas & Ghidoni, 2019). Uma vez no organismo, a curcumina é rapidamente reduzida em diidrocurcumina, tetraidrocurcumina e hexaidrocurcumina, além de sofrer metabolismo de primeira

passagem no fígado (Nelson et al., 2017). No fígado, a curcumina sofre conjugação com o ácido glicurônico e sulfato, formando metabólitos que apresentam baixa bioatividade em comparação com a curcumina livre e influenciam na sua rápida excreção (El-Saadony et al., 2022). Tais características conferem biodisponibilidade limitada à *C. longa* e podem prejudicar, por fim, a sua entrega ao cérebro com eficácia, tendo a necessidade de doses elevadas para que ela consiga alcançar seus efeitos farmacológicos no SNC (Bertoncini-Silva et al., 2024).

Ainda, a curcumina é insolúvel em água, além de possuir estabilidade química dependente de pH (Neslon et al., 2017). A estrutura química da curcumina se degrada rapidamente em pH neutro, tendo como produtos de degradação o ácido ferúlico, vanilina e feruloilmetano, o que dificulta a sua solubilização (El-Saaldony et al., 2022). Por outro lado, em pH ácido, a curcumina é estruturalmente mais estável, mas cristaliza-se, limitando a sua bioatividade (El-Saaldony et al., 2022). Em ambiente alcalino, por sua vez, os fenóis existentes na curcumina são transformados em fenolatos, o que permite a sua dissolução (Nelson et al., 2017), porém, essa condição é pouco propícia para administração biológica. Tais características corroboraram para os desafios enfrentados neste trabalho acerca de elucidar os efeitos da *C. Longa*.

Nessa conjuntura, além de propor um estudo que investigue os efeitos da *C. longa* via oral em doses maiores, a fim de obter resultados satisfatórios frente as lesões causadas pelo AVC isquêmico, sugerimos a investigação dos efeitos da *C. longa* por outras vias de administração, como a via intraperitoneal (i.p.), na tentativa de encontrar concentrações séricas mais elevadas (Bertoncini-Silva et al., 2024; Satyavert et al., 2021). A administração de agentes farmacológicos via i.p., embora sofram metabolismo hepático semelhante a via oral (Satyavert et al., 2021), não sofrem passagem pelo trato gastrointestinal, o que pode aumentar a sua biodisponibilidade e entrega para o cérebro (Bertoncini-Silva et al., 2024; Satyavert et al., 2021; Dei Cas & Ghidoni, 2019). Além disso, sugerimos a tentativa de dissolução da *C. longa* em reagentes que aumentem a sua solubilidade e estabilidade por esta via, como a adição de polissorbato 80 (Tween 80) e/ou dimetilsulfóxido (DMSO) ao veículo NaOH 0,5 M (Coradini et al., 2015).

Em resumo, podemos concluir que o tratamento com *C. longa* via oral na dose de 80 mg/kg em regime de 12/12 horas não foi capaz de reduzir os déficits motores/neurológicos e a lesão cerebral causada pela isquemia cerebral por oclusão da artéria cerebral média em ratos, sob nossas condições experimentais.

6. CONCLUSÕES

O nosso modelo experimental de isquemia cerebral focal transitória produziu déficits comportamentais (neurológicos/motores) e danos cerebrais em ratos machos adultos e é um modelo animal eficaz para se reproduzir AVC isquêmico;

O tratamento com *Curcuma longa* na dose de 80 mg/kg administrada de 12 em 12 horas por 14 dias não foi capaz de reduzir os danos comportamentais em ratos machos submetidos a isquemia cerebral;

O tratamento com *Curcuma longa* na dose de 80 mg/kg administrada de 12 em 12 horas por 14 dias não foi capaz de proteger/reparar a lesão cerebral (área de infarto e volume de infarto) em ratos machos submetidos a isquemia cerebral;

Apesar de os efeitos da *Curcuma longa* não terem sido revelados neste modelo experimental de AVC isquêmico, este trabalho pode nortear trabalhos futuros para elucidar os efeitos da *Curcuma longa* na isquemia cerebral ou em outras doenças ou desordens neurológicas, para o qual sugerimos que uma dose maior que 80 mg/kg do extrato administrado via oral seja investigada;

Ainda, nossos resultados abrem a sugestão para que se investigue os possíveis efeitos da *Curcuma longa* via intraperitoneal quando o objetivo for o tratamento de doenças de cunho neurológico, a fim de aumentar a sua biodisponibilidade e entrega para o cérebro.

7. REFERÊNCIAS

- Abdelsalam, S. A., Renu, K., Zahra, H. A., Abdallah, B. M., Ali, E. M., Veeraraghavan, V. P., Sivalingam, K., Ronsard, L., Ammar, R. ben, Vidya, D. S., Karuppaiya, P., Al-Ramadan, S. Y., & Rajendran, P. (2023). Polyphenols Mediate Neuroprotection in Cerebral Ischemic Stroke—An Update. *Nutrients*, 15(5), 1107. <https://doi.org/10.3390/nu15051107>
- Alquisiras-Burgos, I., Ortiz-Plata, A., Franco-Perez, J., Millan, A., & Aguilera, P. (2020). Resveratrol reduces cerebral edema through inhibition of de novo SUR1 expression induced after focal ischemia. *Experimental Neurology*, 330, 113353. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113353>
- Ayati, Z., Ramezani, M., Amiri, M. S., Moghadam, A. T., Rahimi, H., Abdollahzade, A., Sahebkar, A., & Emami, S. A. (2019). Ethnobotany, Phytochemistry and Traditional Uses of Curcuma spp. and Pharmacological Profile of Two Important Species (*C. longa* and *C. zedoaria*): A Review. *Current Pharmaceutical Design*, 25(8), 871–935. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190402163940>
- Bertoncini-Silva, C., Vlad, A., Ricciarelli, R., Giacomo Fassini, P., Suen, V. M. M., & Zingg, J.-M. (2024). Enhancing the Bioavailability and Bioactivity of Curcumin for Disease Prevention and Treatment. *Antioxidants*, 13(3), 331. <https://doi.org/10.3390/antiox13030331>
- Bhat, A., Mahalakshmi, A. M., Ray, B., Tuladhar, S., Hediya, T. A., Manthiannem, E., Padamati, J., Chandra, R., Chidambaram, S. B., & Sakharkar, M. K. (2019). Benefits of curcumin in brain disorders. *BioFactors*, 45(5), 666–689. <https://doi.org/10.1002/biof.1533>
- Brasil, Ministério da Saúde (2020). Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Informações Sistematizadas da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS: *Cúrcuma longa L.*, *Zingiberaceae* – Açafrão-da-terra [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/informacoes_sistematizadas_relacao_curcuma_longa.pdf [Acesso em 10 de junho de 2024]
- Brasil, Ministério da Saúde (2020). Banco de dados do Sistema Único de Saúde-DATASUS. Disponível em <http://www.datasus.gov.br> [Acesso em 08 de março de 2024]
- Broughton, B. R. S., Brait, V. H., Guida, E., Lee, S., Arumugam, T. v., Gardiner-Mann, C. v., Miller, A. A., Tang, S.-C., Drummond, G. R., & Sobey, C. G. (2013). Stroke Increases G Protein-Coupled Estrogen Receptor Expression in the Brain of Male but Not Female Mice. *Neurosignals*, 21(3–4), 229–239. <https://doi.org/10.1159/000338019>
- Cekanaviciute, E., & Buckwalter, M. S. (2016). Astrocytes: Integrative Regulators of Neuroinflammation in Stroke and Other Neurological Diseases. *Neurotherapeutics*, 13(4), 685–701. <https://doi.org/10.1007/s13311-016-0477-8>

- Chamorro, Á., Dirnagl, U., Urra, X., & Planas, A. M. (2016). Neuroprotection in acute stroke: targeting excitotoxicity, oxidative and nitrosative stress, and inflammation. *The Lancet Neurology*, 15(8), 869–881. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00114-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00114-9)
- Chan, M. M.-Y., Huang, H.-I., Fenton, M. R., & Fong, D. (1998). In Vivo Inhibition of Nitric Oxide Synthase Gene Expression by Curcumin, a Cancer Preventive Natural Product with Anti-Inflammatory Properties. *Biochemical Pharmacology*, 55(12), 1955–1962. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(98\)00114-2](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(98)00114-2)
- Coradini, K., Friedrich, R. B., Fonseca, F. N., Vencato, M. S., Andrade, D. F., Oliveira, C. M., Battistel, A. P., Guterres, S. S., da Rocha, M. I. U. M., Pohlmann, A. R., & Beck, R. C. R. (2015). A novel approach to arthritis treatment based on resveratrol and curcumin co-encapsulated in lipid-core nanocapsules: In vivo studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 78, 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.07.012>
- Concetta Scuto, M., Mancuso, C., Tomasello, B., Laura Ontario, M., Cavallaro, A., Frasca, F., Maiolino, L., Trovato Salinaro, A., Calabrese, E. J., & Calabrese, V. (2019). Curcumin, Hormesis and the Nervous System. *Nutrients*, 11(10), 2417. <https://doi.org/10.3390/nu11102417>
- de Alcântara, G. F. T., Simões-Neto, E., da Cruz, G. M. P., Nobre, M. E. P., Neves, K. R. T., de Andrade, G. M., Brito, G. A. de C., & Viana, G. S. de B. (2017). Curcumin reverses neurochemical, histological and immuno-histochemical alterations in the model of global brain ischemia. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(1), 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2015.10.001>
- Dei Cas, M., & Ghidoni, R. (2019). Dietary Curcumin: Correlation between Bioavailability and Health Potential. *Nutrients*, 11(9), 2147. <https://doi.org/10.3390/nu11092147>
- Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA (1999). Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci.* Sep;22(9):391-7. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(99\)01401-0](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(99)01401-0).
- Donnan, G. A., Fisher, M., Macleod, M., & Davis, S. M. (2008). Stroke. *The Lancet*, 371(9624), 1612–1623. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60694-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60694-7)
- Durukan, A., & Tatlisumak, T. (2007). Acute ischemic stroke: Overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 87(1), 179–197. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.04.015>
- El-Saadony, M. T., Yang, T., Korma, S. A., Sitohy, M., Abd El-Mageed, T. A., Selim, S., al Jaouni, S. K., Salem, H. M., Mahmmod, Y., Soliman, S. M., Mo'men, S. A. A., Mosa, W. F. A., El-Wafai, N. A., Abou-Aly, H. E., Sitohy, B., Abd El-Hack, M. E., El-Tarabily, K. A., & Saad, A. M. (2023). Impacts of turmeric and its principal bioactive curcumin on human health: Pharmaceutical, medicinal, and food applications: A comprehensive review. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1040259>
- Ermine, C. M., Bivard, A., Parsons, M. W., & Baron, J.-C. (2021). The ischemic penumbra: From concept to reality. *International Journal of Stroke*, 16(5), 497–509. <https://doi.org/10.1177/1747493020975229>

- Farr, T. D., & Trueman, R. C. (2011). *Functional Assessment of Subcortical Ischemia* (pp. 91–114). https://doi.org/10.1007/978-1-61779-301-1_6
- Ferreira, L. O., Mattos, B. G., Joia de Mello, V., Martins-Filho, A. J., Costa, E. T. da, Yamada, E. S., Hamoy, M., & Lopes, D. C. F. (2021). Increased Relative Delta Bandpower and Delta Indices Revealed by Continuous qEEG Monitoring in a Rat Model of Ischemia-Reperfusion. *Frontiers in Neurology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.645138>
- Fukui, A., Osaki, H., Ueta, Y., Kobayashi, K., Muragaki, Y., Kawamata, T., & Miyata, M. (2020). Layer-specific sensory processing impairment in the primary somatosensory cortex after motor cortex infarction. *Scientific Reports*, 10(1), 3771. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60662-7>
- Garodia, P., Hegde, M., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal, B. B. (2023). Curcumin, inflammation, and neurological disorders: How are they linked? *Integrative Medicine Research*, 12(3), 100968. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2023.100968>
- Guzik, A., & Bushnell, C. (2017). Stroke Epidemiology and Risk Factor Management. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 23(1), 15–39. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000416>
- Huang, L., Chen, C., Zhang, X., Li, X., Chen, Z., Yang, C., Liang, X., Zhu, G., & Xu, Z. (2018). Neuroprotective Effect of Curcumin Against Cerebral Ischemia- Reperfusion Via Mediating Autophagy and Inflammation. *Journal of Molecular Neuroscience*, 64(1), 129–139. <https://doi.org/10.1007/s12031-017-1006-x>
- Iadecola, C., & Anrather, J. (2011). The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nature Medicine*, 17(7), 796–808. <https://doi.org/10.1038/nm.2399>
- Jayaraj, R. L., Azimullah, S., Beiram, R., Jalal, F. Y., & Rosenberg, G. A. (2019). Neuroinflammation: friend and foe for ischemic stroke. *Journal of Neuroinflammation*, 16(1), 142. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1516-2>
- Jolugbo, P., & Ariëns, R. A. S. (2021). Thrombus Composition and Efficacy of Thrombolysis and Thrombectomy in Acute Ischemic Stroke. *Stroke*, 52(3), 1131–1142. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.120.032810>
- Junior, A. F. R. S., Santos, G. C. dos, Kaneto, C. M., Jesus, P. A. P. de, & Melo, P. R. S. de. (2022). Hospital service for ischemic stroke patients in Brazilian countryside: are we still in the '80s? *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 80(08), 770–778. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1755228>
- Kanazawa, M., Miura, M., Toriyabe, M., Koyama, M., Hatakeyama, M., Ishikawa, M., Nakajima, T., Onodera, O., Takahashi, T., Nishizawa, M., & Shimohata, T. (2017). Microglia preconditioned by oxygen-glucose deprivation promote functional recovery in ischemic rats. *Scientific Reports*, 7(1), 42582. <https://doi.org/10.1038/srep42582>
- Kanazawa, M., Takahashi, T., Ishikawa, M., Onodera, O., Shimohata, T., & del Zoppo, G. J. (2019). Angiogenesis in the ischemic core: A potential treatment target? *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 39(5), 753–769. <https://doi.org/10.1177/0271678X19834158>
- Katan, M., & Luft, A. (2018). Global Burden of Stroke. *Seminars in Neurology*, 38(02), 208–211. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1649503>

Kocaadam, B., & Şanlıer, N. (2017). Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13), 2889–2895. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1077195>

Kunnumakkara, A. B., Hegde, M., Parama, D., Girisa, S., Kumar, A., Daimary, U. D., Garodia, P., Yeniseti, S. C., Oommen, O. v., & Aggarwal, B. B. (2023). Role of Turmeric and Curcumin in Prevention and Treatment of Chronic Diseases: Lessons Learned from Clinical Trials. *ACS Pharmacology & Translational Science*, 6(4), 447–518. <https://doi.org/10.1021/acsptsci.2c00012>

Lai, T. W., Zhang, S., & Wang, Y. T. (2014). Excitotoxicity and stroke: Identifying novel targets for neuroprotection. *Progress in Neurobiology*, 115, 157–188. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.11.006>

Lee, W.-H., Loo, C.-Y., Bebawy, M., Luk, F., Mason, R., & Rohanizadeh, R. (2013). Curcumin and its Derivatives: Their Application in Neuropharmacology and Neuroscience in the 21st Century. *Current Neuropharmacology*, 11(4), 338–378. <https://doi.org/10.2174/1570159X11311040002>

Li, X.-H., Yin, F.-T., Zhou, X.-H., Zhang, A.-H., Sun, H., Yan, G.-L., & Wang, X.-J. (2022). The Signaling Pathways and Targets of Natural Compounds from Traditional Chinese Medicine in Treating Ischemic Stroke. *Molecules*, 27(10), 3099. <https://doi.org/10.3390/molecules27103099>

Liang, Ce, Ni, G.-Xiao., Shi, X.-Liang., Jia, Lin., & Wang, Y. (2020). RETRACTED: Astragaloside IV regulates the HIF/VEGF/Notch signaling pathway through miRNA-210 to promote angiogenesis after ischemic stroke. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 38(3), 271–282. <https://doi.org/10.3233/RNN-201001>

Lipton, P. (1999). Ischemic Cell Death in Brain Neurons. *Physiological Reviews*, 79(4), 1431–1568. <https://doi.org/10.1152/physrev.1999.79.4.1431>

Liu, Y., Dang, W., Zhang, S., Wang, L., & Zhang, X. (2021). Artesunate attenuates inflammatory injury and inhibits the NF-κB pathway in a mouse model of cerebral ischemia. *Journal of International Medical Research*, 49(11), 0300060521110535. <https://doi.org/10.1177/030006052111053549>

Liu, Z., Ran, Y., Huang, S., Wen, S., Zhang, W., Liu, X., Ji, Z., Geng, X., Ji, X., Du, H., Leak, R. K., & Hu, X. (2017). Curcumin Protects against Ischemic Stroke by Titrating Microglia/Macrophage Polarization. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00233>

Lobo, P. G. G. A., Zanon, V. de B., Lara, D. de, Freire, V. B., Nozawa, C. A., Andrade, J. V. B. de, Barros, W. C., & Lobo, I. G. A. (2021). Epidemiologia do acidente vascular cerebral isquêmico no Brasil no ano de 2019, uma análise sob a perspectiva da faixa etária / Epidemiology of the ischemic cerebrovascular accident in Brazil in the year of 2019, an analysis from an age group perspective. *Brazilian Journal of Health Review*, 4(1), 3498–3505. <https://doi.org/10.34119/bjhrv4n1-272>

Longa, E. Z., Weinstein, P. R., Carlson, S., & Cummins, R. (1989). Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*, 20(1), 84–91. <https://doi.org/10.1161/01.STR.20.1.84>

Martin, S. S., Aday, A. W., Almarzooq, Z. I., Anderson, C. A. M., Arora, P., Avery, C. L., Baker-Smith, C. M., Barone Gibbs, B., Beaton, A. Z., Boehme, A. K., Commodore-

- Mensah, Y., Currie, M. E., Elkind, M. S. V., Evenson, K. R., Generoso, G., Heard, D. G., Hiremath, S., Johansen, M. C., Kalani, R., Palaniappan, L. P. (2024). 2024 Heart Disease and Stroke Statistics: A Report of US and Global Data From the American Heart Association. *Circulation*, 149(8). <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001209>
- Memarzia, A., Khazdair, M. R., Behrouz, S., Gholamnezhad, Z., Jafarnezhad, M., Saadat, S., & Boskabady, M. H. (2021). Experimental and clinical reports on antiinflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Curcuma longa* and curcumin, an updated and comprehensive review. *BioFactors*, 47(3), 311–350. <https://doi.org/10.1002/biof.1716>
- Modo, M., Stroemer, R. P., Tang, E., Veizovic, T., Sowniski, P., & Hodges, H. (2000). Neurological sequelae and long-term behavioural assessment of rats with transient middle cerebral artery occlusion. *Journal of Neuroscience Methods*, 104(1), 99–109. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(00\)00329-0](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(00)00329-0)
- Moskowitz, M. A., Lo, E. H., & Iadecola, C. (2010). The Science of Stroke: Mechanisms in Search of Treatments. *Neuron*, 67(2), 181–198. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.07.002>
- Mozaffarian, D., Benjamin, E. J., Go, A. S., Arnett, D. K., Blaha, M. J., Cushman, M., Das, S. R., de Ferranti, S., Despres, J.-P., Fullerton, H. J., Howard, V. J., Huffman, M. D., Isasi, C. R., Jimenez, M. C., Judd, S. E., Kissela, B. M., Lichtman, J. H., Lisabeth, L. D., Liu, S., Turner, M. B. (2016). Heart Disease and Stroke Statistics—2016 Update. *Circulation*, 133(4). <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000350>
- Nascimento, C. P., Ferreira, L. O., Silva, A. L. M. da, Silva, A. B. N. da, Rodrigues, J. C. M., Teixeira, L. L., Azevedo, J. E. C., Araujo, D. B. de, Hamoy, A. O., Goncalves, B. H., Coelho, B. H. D. O., Lopes, D. C. F., & Hamoy, M. (2022). A Combination of *Curcuma longa* and Diazepam Attenuates Seizures and Subsequent Hippocampal Neurodegeneration. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 16. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.884813>
- Nelson, K. M., Dahlin, J. L., Bisson, J., Graham, J., Pauli, G. F., & Walters, M. A. (2017). The Essential Medicinal Chemistry of Curcumin. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60(5), 1620–1637. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00975>
- Netter, F. H (2018). Atlas of Human Anatomy.(7th Edition). Elsevier Inc, Philadelphia, PA
- Nirumand, M., Hajialyani, M., Rahimi, R., Farzaei, M., Zingue, S., Nabavi, S., & Bishayee, A. (2018). Dietary Plants for the Prevention and Management of Kidney Stones: Preclinical and Clinical Evidence and Molecular Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 765. <https://doi.org/10.3390/ijms19030765>
- Norouzkhani, N., Karimi, A. G., Badami, N., Jalalifar, E., Mahmoudvand, B., Ansari, A., Pakrou Sariyarihan, N., Alijanzadeh, D., Aghakhani, S., Shayestehmehr, R., Arzaghi, M., Sheikh, Z., Salami, Y., Marabi, M. H., Abdi, A., & Deravi, N. (2022). From kitchen to clinic: Pharmacotherapeutic potential of common spices in Indian cooking in age-related neurological disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.960037>

Ohashi, S. N., DeLong, J. H., Kozberg, M. G., Mazur-Hart, D. J., van Veluw, S. J., Alkayed, N. J., & Sansing, L. H. (2023). Role of Inflammatory Processes in Hemorrhagic Stroke. *Stroke*, 54(2), 605–619. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.122.037155>

Ojaghihaghighi, S., Vahdati, S. S., Mikaeilpour, A., & Ramouz, A. (2017). Comparison of neurological clinical manifestation in patients with hemorrhagic and ischemic stroke. *World Journal of Emergency Medicine*, 8(1), 34. <https://doi.org/10.5847/wjem.j.1920-8642.2017.01.006>

Orellana-Urzúa, S., Rojas, I., Líbano, L., & Rodrigo, R. (2020). Pathophysiology of Ischemic Stroke: Role of Oxidative Stress. *Current Pharmaceutical Design*, 26(34), 4246–4260. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200708133912>

Ouriques Martins, S. C., Sacks, C., Hacke, W., Brainin, M., de Assis Figueiredo, F., Marques Pontes-Neto, O., Lavados Germain, P. M., Marinho, M. F., Hoppe Wiegering, A., Vaca McGhie, D., Cruz-Flores, S., Ameriso, S. F., Camargo Villareal, W. M., Durán, J. C., Fogolin Passos, J. E., Gomes Nogueira, R., Freitas de Carvalho, J. J., Sampaio Silva, G., Cabral Moro, C. H., ... Feigin, V. L. (2019). Priorities to reduce the burden of stroke in Latin American countries. *The Lancet Neurology*, 18(7), 674–683. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30068-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30068-7)

Parrella, E., Gussago, C., Porrini, V., Benarese, M., & Pizzi, M. (2020). From Preclinical Stroke Models to Humans: Polyphenols in the Prevention and Treatment of Stroke. *Nutrients*, 13(1), 85. <https://doi.org/10.3390/nu13010085>

Qin, C., Zhou, L.-Q., Ma, X.-T., Hu, Z.-W., Yang, S., Chen, M., Bosco, D. B., Wu, L.-J., & Tian, D.-S. (2019). Dual Functions of Microglia in Ischemic Stroke. *Neuroscience Bulletin*, 35(5), 921–933. <https://doi.org/10.1007/s12264-019-00388-3>

Qiu, C.-W., Liu, Z.-Y., Zhang, F.-L., Zhang, L., Li, F., Liu, S.-Y., He, J.-Y., & Xiao, Z.-C. (2019). Post-stroke gastrodin treatment ameliorates ischemic injury and increases neurogenesis and restores the Wnt/ β -Catenin signaling in focal cerebral ischemia in mice. *Brain Research*, 1712, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.01.043>

Rauf, A., & Rahman, Md. M. (2022). Potential therapeutics against neurological disorders: Natural products-based drugs. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.950457>

Rayasam, A., Hsu, M., Kijak, J. A., Kissel, L., Hernandez, G., Sandor, M., & Fabry, Z. (2018). Immune responses in stroke: how the immune system contributes to damage and healing after stroke and how this knowledge could be translated to better cures? *Immunology*, 154(3), 363–376. <https://doi.org/10.1111/imm.12918>

Rousselet, E., Kriz, J., & Seidah, N. G. (2012). Mouse Model of Intraluminal MCAO: Cerebral Infarct Evaluation by Cresyl Violet Staining. *Journal of Visualized Experiments*, 69. <https://doi.org/10.3791/4038>

Satyavert, Gupta, S., Choudhury, H., Jacob, S., Nair, A. B., Dhanawat, M., & Munjal, K. (2021). Pharmacokinetics and tissue distribution of hydrazinocurcumin in rats. *Pharmacological Reports*, 73(6), 1734–1743. <https://doi.org/10.1007/s43440-021-00312-5>

Shichita, T., Sakaguchi, R., Suzuki, M., & Yoshimura, A. (2012). Post-Ischemic Inflammation in the Brain. *Frontiers in Immunology*, 3. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00132>

Sims, N. R., & Yew, W. P. (2017). Reactive astrogliosis in stroke: Contributions of astrocytes to recovery of neurological function. *Neurochemistry International*, 107, 88–103. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.12.016>

Sohrabji, F., Park, M. J., & Mahnke, A. H. (2017). Sex differences in stroke therapies. *Journal of Neuroscience Research*, 95(1–2), 681–691. <https://doi.org/10.1002/jnr.23855>

Su, X.-T., Wang, L., Ma, S.-M., Cao, Y., Yang, N.-N., Lin, L.-L., Fisher, M., Yang, J.-W., & Liu, C.-Z. (2020). Mechanisms of Acupuncture in the Regulation of Oxidative Stress in Treating Ischemic Stroke. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2020/7875396>

Subedi, L., & Gaire, B. P. (2021). Neuroprotective Effects of Curcumin in Cerebral Ischemia: Cellular and Molecular Mechanisms. *ACS Chemical Neuroscience*, 12(14), 2562–2572. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.1c00153>

Sueth-Santiago, V., Mendes-Silva, G. P., Decoté-Ricardo, D., & Lima, M. E. F. de. (2015). CURCUMIN, THE GOLDEN POWDER FROM TURMERIC: INSIGHTS INTO CHEMICAL AND BIOLOGICAL ACTIVITIES. *Química Nova*. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150035>

Sun, J., Yu, L., Huang, S., Lai, X., Milner, R., & Li, L. (2017). Vascular expression of angiopoietin1, $\alpha 5\beta 1$ integrin and tight junction proteins is tightly regulated during vascular remodeling in the post-ischemic brain. *Neuroscience*, 362, 248–256. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.08.040>

Szydlowska, K., & Tymianski, M. (2010). Calcium, ischemia and excitotoxicity. *Cell Calcium*, 47(2), 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2010.01.003>

Teixeira, L. L., Alencar, H. M. N. da S., Ferreira, L. O., Rodrigues, J. C. M., de Souza, R. D., Celestino Pinto, L., Muto, N. A., Rogez, H., Martins-Filho, A. J., Joia de Mello, V., Hamoy, M., Costa, E. T. da, & Lopes, D. C. F. (2023). Oral Treatment with the Extract of *Euterpe oleracea* Mart. Improves Motor Dysfunction and Reduces Brain Injury in Rats Subjected to Ischemic Stroke. *Nutrients*, 15(5), 1207. <https://doi.org/10.3390/nu15051207>

Uzdensky, A. B. (2019). Apoptosis regulation in the penumbra after ischemic stroke: expression of pro- and antiapoptotic proteins. *Apoptosis*, 24(9–10), 687–702. <https://doi.org/10.1007/s10495-019-01556-6>

Wardlaw, J. M., Murray, V., Berge, E., & del Zoppo, G. J. (2014). Thrombolysis for acute ischaemic stroke. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2016(1). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000213.pub3>

Xie, C., Gu, A., Cai, J., Wu, Y., & Chen, R. (2018). Curcumin protects neural cells against ischemic injury in N2a cells and mouse brain with ischemic stroke. *Brain and Behavior*, 8(2). <https://doi.org/10.1002/brb3.921>

- Xing, C., Arai, K., Lo, E. H., & Hommel, M. (2012). Pathophysiologic Cascades in Ischemic Stroke. *International Journal of Stroke*, 7(5), 378–385. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2012.00839.x>
- Xiong, X.-Y., Liu, L., & Yang, Q.-W. (2016). Functions and mechanisms of microglia/macrophages in neuroinflammation and neurogenesis after stroke. *Progress in Neurobiology*, 142, 23–44. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.05.001>
- Xu, S., Lu, J., Shao, A., Zhang, J. H., & Zhang, J. (2020). Glial Cells: Role of the Immune Response in Ischemic Stroke. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00294>
- Xue, R., Wu, G., Wei, X., Lv, J., Fu, R., Lei, X., Zhang, Z., Li, W., He, J., Zhao, H., Zhao, J., & Ding, X. (2016). Tea polyphenols may attenuate the neurocognitive impairment caused by global cerebral ischemia/reperfusion injury via anti-apoptosis. *Nutritional Neuroscience*, 19(2), 63–69. <https://doi.org/10.1179/1476830514Y.0000000160>
- Yang, J., Shao, C., Li, W., Wan, H., He, Y., & Yang, J. (2021). Protective effects of Astragaloside IV against oxidative injury and apoptosis in cultured astrocytes by regulating Nrf2/JNK signaling. *Experimental Brain Research*, 239(6), 1827–1840. <https://doi.org/10.1007/s00221-021-06096-7>
- Yang, X., Feng, P., Zhang, X., Li, D., Wang, R., Ji, C., Li, G., & Holscher, C. (2019). The diabetes drug semaglutide reduces infarct size, inflammation, and apoptosis, and normalizes neurogenesis in a rat model of stroke. *Neuropharmacology*, 158, 107748. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107748>
- Zeng, L., Yu, G., Hao, W., Yang, K., & Chen, H. (2021). The efficacy and safety of *Curcuma longa* extract and curcumin supplements on osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Bioscience Reports*, 41(6). <https://doi.org/10.1042/BSR20210817>
- Zhang, Y., Yan, Y., Cao, Y., Yang, Y., Zhao, Q., Jing, R., Hu, J., & Bao, J. (2017). Potential therapeutic and protective effect of curcumin against stroke in the male albino stroke-induced model rats. *Life Sciences*, 183, 45–49. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.06.023>
- Zhu, T., Wang, L., Wang, L., & Wan, Q. (2022). Therapeutic targets of neuroprotection and neurorestoration in ischemic stroke: Applications for natural compounds from medicinal herbs. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 148, 112719. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112719>

8. COMPROVANTE DE SUBMISSÃO/ACEITE DE ARTIGO CIENTÍFICO

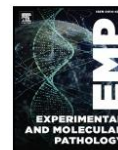
Experimental and Molecular Pathology 139 (2024) 104921



Contents lists available at ScienceDirect

Experimental and Molecular Pathology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/yexmp



Dexamethasone attenuates low-frequency brainwave disturbances following acute seizures induced by pentylenetetrazol in Wistar rats

Rafaella Marques Ribeiro^{a,1}, Esther Padilha da Silveira^{b,1}, Vitoria Corrêa Santos^b, Leonan Lima Teixeira^b, Gisely Santiago Santos^a, Izabela Nascimento Galvão^a, Maria Klara Otake Hamoy^a, Allan Carlos da Silva Tiago^a, Daniella Bastos de Araújo^a, Nilton Akio Muto^c, Dielly Catrina Favacho Lopes^b, Moisés Hamoy^{a,*}

^a Laboratory of the Pharmacology and Toxicology of Natural Products, Biological Sciences Institute, Federal University of Pará, Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá, Belém, Pará 66075-110, Brazil

^b Laboratory of Experimental Neuropathology, João de Barros Barreto University Hospital, Federal University of Pará, Rua dos Munducurus, 4487, Guamá, Belém, Pará 66073-000, Brazil

^c Centre for the Valorization of Amazonian Bioactive Compounds (CVACBA), Federal University of Pará, Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá, Belém, Pará 66075-110, Brazil

ARTICLE INFO

Edited by Marco Giudici

Keywords:

Seizure
Dexamethasone
Refractoriness
Hippocampus
Electroencephalography

ABSTRACT

Seizures are neurological disorders triggered by an imbalance in the activity of excitatory and inhibitory neurotransmitters in the brain. When triggered chronically, this imbalance can lead to epilepsy. Critically, many of the affected individuals are refractory to treatment. Given this, anti-inflammatory drugs, in particular glucocorticoids, have been considered as a potential antiepileptogenic therapy. Glucocorticoids are currently used in the treatment of refractory patients, although there have been contradictory results in terms of their use in association with antiepileptic drugs, which reinforces the need for a more thorough investigation of their effects. In this context, the present study evaluated the effects of dexamethasone (DEX, 0.6 mg/kg) on the electroencephalographic (EEG) and histopathological parameters of male Wistar rats submitted to acute seizure induced by pentylenetetrazol (PTZ). The EEG monitoring revealed that DEX reduced the total brainwave power, in comparison with PTZ, in 12 h after the convulsive episode, exerting this effect in up to 36 h ($p < 0.05$ for all comparisons). An increase in the accommodation of the oscillations of the delta, alpha, and gamma frequencies was also observed from the first 12 h onwards, with the accommodation of the theta frequency occurring after 36 h, and that of the beta frequency 24 h after the seizure. The histopathological analyses showed that the CA3 region and hilum of the hippocampus suffered cell loss after the PTZ-induced seizure (control vs. PTZ, $p < 0.05$), although DEX was not able to protect these regions against cell death (PTZ vs. DEX + PTZ, $p > 0.05$). While DEX did not reverse the cell damage caused by PTZ, the data indicate that DEX has beneficial properties in the EEG analysis, which makes it a promising candidate for the attenuation of the epileptiform wave patterns that can precipitate refractory seizures.

1. Introduction

Seizures are neurological disorders triggered by an imbalance in the activity of the excitatory and inhibitory neurotransmitters in the brain, which causes a reduction in the synaptic transmission mediated by the GABA receptors or an increase in glutamatergic signalling, which can

progress to epilepsy (Scharfman, 2007). Epilepsy affects approximately 50 million people worldwide, and approximately 20–30% of these patients are refractory to treatment with antiepileptic drug (Borham et al., 2016; Devinsky et al., 2018). This scenario emphasises the need for new, and more effective pharmacological therapies, which has led to the use of off-label drugs, including anti-inflammatory steroid drugs (such as

* Corresponding author at: Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá, Belém, Pará 66075-110, Brazil.

E-mail address: hamoy@ufpa.br (M. Hamoy).

¹ These authors contributed equally to this work.

<https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2024.104921>

Received 30 January 2024; Received in revised form 9 July 2024; Accepted 22 July 2024

Available online 2 August 2024

0014-4800/© 2024 The Authors. Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).